

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

GÉOLOCATION ET ISOTOPES STABLES : UNE APPROCHE PROMETTEUSE
POUR EXPLIQUER LES CONCENTRATIONS D'IGNIFUGES CHEZ LES
ESPÈCES AVIAIRES

MÉMOIRE
PRÉSENTÉ
COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN BIOLOGIE

PAR
ÉLYSE CARON-BEAUDOIN

JANVIER 2013

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.01-2006). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

Les plaisirs sans fin du contact avec la nature ne sont pas réservés aux scientifiques, mais accessibles à tous ceux qui se placent sous l'influence de la terre, de la mer, du ciel, et de leur existence surprenante.

Rachel Carson

AVANT-PROPOS

Ce projet de maîtrise s'inscrit au sein de la Chaire de recherche du Canada en toxicologie comparée des espèces aviaires, dirigée par M. Jonathan Verreault. Cette étude avait pour but de développer une nouvelle approche alliant des méthodes d'analyse traditionnelles ainsi que de plus innovatrices afin d'expliquer les concentrations d'ignifuges chez une espèce aviaire, le goéland à bec cerclé (*Larus delawarensis*), nichant en milieu urbain dans l'écosystème du Fleuve Saint-Laurent. Les méthodes d'analyse utilisées étaient l'analyse des contenus stomacaux ainsi que les isotopes stables de carbone et d'azote en tant que traceurs écologiques. De plus, pour étudier le comportement alimentaire de ces oiseaux, nous avons utilisé une nouvelle technologie de GPS miniatures, permettant d'obtenir un suivi détaillé des mouvements des oiseaux. L'objectif principal de cette étude était de comprendre les variations dans les concentrations de polybromodiphényléthers (PBDEs) ainsi que leurs sources d'exposition (potentiellement environnementales et alimentaires) dans les tissus du goéland à bec cerclé, un oiseau bioindicateur des milieux urbanisés et populeux de la région de Montréal. Malgré le relativement petit nombre d'oiseaux suivis, cette approche a démontré un excellent potentiel d'application. En effet, de grandes variations interindividuelles dans les profils de contamination ont été reliées avec l'utilisation de l'espace du goéland à bec cerclé, ainsi que partiellement avec la signature isotopique. À plus long terme et avec un effectif d'échantillonnage plus élevé, ce design expérimental pourra permettre de prédire les profils de contamination d'espèces aviaires par leur utilisation de l'espace et leur alimentation.

Ce présent document est divisé en trois chapitres. Le premier chapitre est dédié à l'état des connaissances concernant la contamination du Fleuve Saint-Laurent aux retardateurs de flammes, l'état de la législation concernant l'utilisation des PBDEs, l'emploi des isotopes stables en tant que traceurs écologiques, les mouvements et sources des contaminants, ainsi que l'application de la géolocalisation au sein d'une problématique écotoxicologique. Les deux chapitres suivants présentent les divers résultats obtenus au courant de ma maîtrise et sont

rédigés sous forme d'articles scientifiques en anglais. Plus précisément, le second chapitre porte sur l'utilisation de l'espace pour la quête alimentaire par le goéland à bec cerclé ainsi que sur l'interprétation des analyses isotopiques. Cet article a été récemment soumis dans la revue *Canadian Journal of Zoology*. Le troisième chapitre porte sur les résultats concernant la contamination des goélands à bec cerclé aux PBDEs, ainsi que l'influence de l'alimentation et de l'utilisation de l'espace sur les profils de contamination très variés. Cet article sera soumis dans la revue *Science of Total Environment*.

L'équipe du laboratoire de Monsieur Jonathan Verreault et moi-même avons assumé la récolte des échantillons lors du printemps 2010. J'ai pris en charge l'analyse des données ainsi que la rédaction des différentes versions des articles et de ce mémoire, avec l'aide précieuse de mon directeur de recherche, Monsieur Jonathan Verreault. Madame Marie-Line Gentes, co-auteur des deux articles présentés dans ce mémoire, a pris en charge la logistique du terrain ainsi que l'analyse des données de géolocalisation. Monsieur Jean-François Hélie, co-auteur dans l'article présenté au chapitre I de ce mémoire, a contribué à l'analyse des données isotopiques. Monsieur Jean-François Giroux, également co-auteur dans les deux articles, a apporté son expertise en écologie comportementale. Finalement, Monsieur Robert Letcher, co-auteur dans le second article présenté dans ce mémoire, a apporté une contribution importante avec l'expertise de son laboratoire sur les analyses chimiques de contaminants.

Cette étude est, à mon sens, d'un grand intérêt environnemental. Si plusieurs études ont porté sur des contaminants tristement célèbres comme les biphényles polychlorés (BPC), moins d'information est disponible au sujet des retardateurs de flammes, tant au niveau de leurs sources, leur cheminement et leurs effets sur les organismes des niveaux trophiques supérieurs. De plus, les études passées utilisant l'isotopie stable sont parfois incomplètes, en raison de l'absence de connaissance du régime alimentaire de l'espèce étudiée. En ce sens, la présente étude, qui a démontré un grand potentiel, est tout à fait originale puisqu'elle a permis de pallier ces limites et ouvre la porte à d'autres avenues de recherche.

Je tiens premièrement à remercier mon directeur de recherche, Monsieur Jonathan Verreault. Participer au développement d'un tout nouveau laboratoire ainsi qu'à l'élaboration d'un projet de recherche s'est avéré être une expérience des plus intéressante et motivante. Sa grande disponibilité, ses encouragements et son sens critique ont été appréciés tout au long de mon parcours.

Je remercie le CRSNG, dont l'octroi de fond de recherche à Monsieur Jonathan Verreault a permis de me concentrer sur ce projet de recherche durant les deux dernières années, par l'entremise de ma bourse principale. Je souhaite également remercier sincèrement la Fondation de l'Université du Québec pour leur soutien financier grâce à la bourse *Fonds à l'accessibilité et à la réussite des études* (FARE) ainsi que le Département des Sciences Biologiques (bourse du Fonds du Département des Sciences Biologiques).

Je tiens également à remercier Madame Marie-Line Gentes, pour sa participation indispensable au projet lors des analyses de données GPS ainsi que pour sa grande expérience et ses conseils lors de la saison d'échantillonnage. Son attitude positive et son professionnalisme m'ont fait apprécier le travail de terrain de façon considérable. Je voudrais également remercier toute l'équipe du laboratoire de Monsieur Jean-François Giroux, pour leur expertise quant à la logistique des activités sur le terrain, leur efficacité et leur compréhension face à certaines contraintes provenant de notre protocole. Je souligne également l'implication essentielle des membres du laboratoire GEOTOP-UQAM, et je remercie particulièrement Monsieur Jean-François Hélie et Madame Agnieszka Adamowicz pour leur aide et expertise quant à l'analyse des isotopes stables.

Je désire remercier également l'équipe du laboratoire de Monsieur Robert Letcher, au *National Wildlife Research Center* de l'Université Carleton à Ottawa, et plus précisément Messieurs Shaogang Chu, Lewis Gauthier et Éric Pelletier, pour leur contribution importante quant à l'extraction des contaminants et leur analyse sur GC-MS. Le temps précieux qu'ils m'ont consacré, ainsi que leur expérience et bonne humeur ont fait de mon séjour à Ottawa une expérience enrichissante et formatrice dont je ne garde que de bons souvenirs.

Mener à terme un projet de recherche à la maîtrise est un parcours parfois sinueux et semé d'embûches. Pendant ces moments plus difficiles, certaines personnes ont la capacité de nous insuffler ce qu'il faut de persévérance. C'est entre autre pour cette qualité exceptionnelle, ainsi que pour sa fidèle amitié, que je remercie spécialement Bernice Chabot-Giguère. Excellente coéquipière de laboratoire au baccalauréat, nos chemins se sont croisés jusqu'à la maîtrise que nous avons poursuivie et achevée ensemble. Je ne lui souhaite rien de moins que le meilleur, et j'espère de tout coeur que notre amitié transcendera les murs de l'UQAM.

Je tiens à remercier toutes mes collègues de laboratoire, Bernice Chabot-Giguère, Marie-Line Gentes, Stéphanie Pellerin, Cynthia D. Franci, Véronica Aponte ainsi que Sarah Marteinson. J'ai eu un grand plaisir à les côtoyer pendant ces deux années et nos discussions ont toujours été des plus enrichissantes. Je désire aussi remercier Madame Vicky Doré pour son dévouement au laboratoire et ses conseils avertis. Finalement, je ne pourrais passer sous silence l'implication, les encouragements et le soutien tant financier que moral de mes parents sans qui je ne pourrais poursuivre des études supérieures. Je suis également très reconnaissante envers mon amoureux, Pascal-Hugo D.Longpré, pour sa compréhension, ses attentions et son amour pendant ces dernières années.

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS.....	iii
LISTE DES FIGURES	x
LISTE DES TABLEAUX	xi
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	xii
RÉSUMÉ	xiv
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I.....	4
ÉTAT DES CONNAISSANCES	4
1.1 Contamination du milieu aquatique par les composés organohalogénés	5
1.1.1 Le Fleuve Saint-Laurent	5
1.1.2 Exposition aux PBDEs	6
1.1.3 Les retardateurs de flamme de type PBDE: particularités et toxicité	7
1.2 Utilisation des traceurs écologiques	8
1.2.1 Utilisation des isotopes stables comme traceurs écologiques.....	8
1.3 Suivis des oiseaux par biotélémétrie GPS	10
1.4 Le Goéland à bec cerclé.....	12
1.4.1 Utilisation du Goéland à bec cerclé en tant qu'espèce sentinelle.....	12
1.4.2 Écologie du Goéland à bec cerclé.....	12
1.4.3 Stratégie alimentaire	13
1.5 Objectifs.....	14
CHAPITRE II.....	15
COMBINED USE OF STABLE ISOTOPE SIGNATURE AND GPS-BASED TELEMETRY TO UNDERSTAND THE FEEDING ECOLOGY OF RING-BILLED GULLS IN A HETEROGENEOUS LANDSCAPE	15
2.1 Abstract.....	16
2.2 Introduction.....	17
2.3 Materials and Methods	20

2.3.1	Field work and sample collection	Erreur ! Signet non défini.
2.3.2	GPS data analysis	21
2.3.3	Partial G.I tract content analysis	22
2.3.4	Stable isotopes analysis	22
2.3.5	Statistical analysis.....	23
2.4	Results.....	25
2.4.1	GPS data	25
2.4.2	Partial G.I. tract content.....	25
2.4.3	Stable isotopes	26
2.4.4	Association between variables.....	32
2.5	Discussion.....	34
2.5.1	Foraging habitat usage and diet composition	34
2.5.2	Evidence for anthropogenic food consumption based on stable isotopes	35
2.6	Conclusions and recommendations	37
2.7	Acknowledgements.....	37
	CHAPITRE III	38
	CAN STABLE ISOTOPES AND GPS TRACKING BE USED TO EXPLAIN THE HIGH BDE-209 EXPOSURE OF URBAN-BREEDING RING-BILLED GULLS?	38
3.1	Abstract.....	39
3.2	Introduction.....	40
3.3	Materials and Methods	43
3.3.1	Sample Collection.....	43
3.3.2	GPS data analysis	44
3.3.3	Stable isotopes analysis	45
3.3.4	Chemical analysis	45
3.3.5	Statistical analysis.....	46
3.4	Results.....	48
3.4.1	GPS tracking.....	48
3.4.2	Stable isotopes signature.....	48
3.4.3	PBDE profiles in liver and plasma	50

3.4.4	Associations with stable isotopes	53
3.5	Discussion.....	55
3.5.1	Foraging habitat usage and stable isotope signature.....	55
3.5.2	Anthropogenic habitats as potential sources of BDE-209	56
3.6	Conclusion and future work.....	59
3.7	Acknowledgements.....	60
	CONCLUSION	61
4.1	La fréquentation du milieu anthropique comme source de contamination au BDE-209.....	65
4.2	Recommandations.....	65
	ANNEXE	
	RÉSULTATS COMPLÉMENTAIRES: CONTENUS STOMACAUX.....	66
	RÉFÉRENCES.....	68

LISTE DES FIGURES

Figure	Page
2.1 Correlations between isotopic ratios of carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) in blood cells (A), plasma (B) and liver (C) of RBGUs breeding on Deslaurier Island, greater Montréal area.....	28
2.2 Correlations between isotopic ratios of nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) between blood cells and plasma (A), liver and plasma (B) and liver and blood cells (C) of RBGU breeding on Deslauriers Island, greater Montréal area.....	29
2.3 Mean $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ (± 1 SE) in blood cells (A), plasma (B) and liver (C) of RBGUs breeding on Deslauriers Island, greater Montréal area, categorized by foraging habitats (Agricultural, St-Lawrence River and Anthropogenic).....	30
2.4 Mean C:N ratios values (± 1 SE) in blood cells (A), plasma (B) and liver (C) of RBGUs nesting on Deslauriers Island, greater Montréal area, categorized by foraging habitats (Agricultural, St-Lawrence River and Anthropogenic).....	32
2.5 Principal component analysis (PCA) showing correlations structures between % of time spent in each foraging habitat (Agricultural, St-Lawrence River and Anthropogenic), $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ and C:N ratios in liver of RBGUs.....	33
3.1 Mean $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ (± 1 S.E.) in plasma (A) and liver (B) of RBGUs categorized by foraging habitats (Agricultural, St-Lawrence River and Anthropogenic).....	50
3.2 Mean BDE-209 to BDE-47 concentration ratios in plasma (A) and liver (B) of RBGUs categorized by foraging habitats (Agricultural, St-Lawrence River and Anthropogenic).....	53
3.3 Correlations between concentrations of BDE-209 (log-transformed ng/g ww) and $\delta^{15}\text{N}$ in plasma (A) and liver (B) of RBGUs categorized in the Agricultural foraging habitat.....	55

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Page
3.1 Mean (\pm S.E.) lipid content and concentrations (ng/g ww) of selected PBDE congeners and their sums determined in plasma and liver of breeding RBGUs (n=21) categorized by main foraging habitats (Agricultural, St-Lawrence and Anthropogenic) in the greater Montréal.....	51

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ANOVA	Analysis of variance
BDE-47	2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether
BDE-99	2,2',4,4',5-Pentabromodiphenyl ether
BDE-100	2,2',4,4',6-Pentabromodiphenyl ether
BDE-153	2,2',4,4',5,5'-Hexabromodiphenyl ether
BDE-154	2,2',4,4',5,6'-Hexabromodiphenyl ether
BDE-183	2,2',3,4,4',5',6-Heptabromodiphenyl ether
BDE-209	2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-Decabromodiphenyl ether
BPC	Biphényles polychlorés
C	Carbon
DDT	Dichlorodiphényltrichloroéthane
DE	Diatomaceous earth
Deca-BDE	Deca-bromodiphenyl ether
DP	Dechlorane Plus
FR	Flame retardant
G.I. tract	Gastrointestinal tract
GC/MS-ECNI	Gas Chromatography/Mass Spectroscopy- Electron-Capture Negative-Ion
GPC	Gel permeation chromatography
GPS	Global Positioning System
Koe	coefficient octanol/eau
MLOD	Method limit of detection
MLOQ	Method limit of quantification
N	Nitrogen
Octa-BDE	Octabromodiphenyl ether
OHs	Organohalogénés

PBDE	Polybromodiphényl éther/polybrominated diphenyl ethers
PCA	Principal component analysis
PCs	Principal components
Penta-BDE	Pentabromodiphenyl ether
POP	Polluant organique persistant
QA/QC	Quality Assurance/Quality Control
RBGU	Ring-billed gull
SiOH	Silica gel
SPE	Solid-phase extraction
TBPH	Bis(2-ethylhexyl)2,3,4,5-tetrabromophthalate
$\delta^{13}\text{C}$	Carbon stable isotope
$\delta^{15}\text{N}$	Nitrogen stable isotope

RÉSUMÉ

Les retardateurs de flamme halogénés comme les polybromodiphényléthers (PBDE) sont utilisés depuis plusieurs années pour leurs propriétés ignifugeantes dans les produits d'usage courant. Afin de rencontrer les normes de protection des incendies, on retrouve de ces substances dans les textiles, les circuits électroniques, les meubles, etc. Il existe trois formulations techniques de PBDE, soit le penta-BDE, l'octa-BDE et le déca-BDE. Les mélanges penta- et octa-BDE ont été bannis au Canada en 2006. Cependant, le déca-BDE est couramment utilisé comme additif dans nos produits de consommation, quoique certaines restrictions quant à sa production et son utilisation soient à prévoir pour 2013 au Canada. Ces composés bromés présentent plusieurs propriétés inquiétantes, c'est-à-dire leur liposolubilité, leur potentiel de bioaccumulation et de bioamplification et leurs métabolites potentiellement toxiques. Par ailleurs, il a été démontré dans plusieurs études que les PBDEs sont bioaccumulés dans la faune, entre autres, chez les espèces aviaires. Les espèces occupant des niveaux trophiques supérieurs sont plus sensibles à la bioaccumulation de certains de ces contaminants. En ce sens, le goéland à bec cerclé (*Larus delawarensis*), qui niche sur des îles à l'Est de Montréal et dans une portion du Fleuve Saint-Laurent fortement contaminée par les retardateurs de flammes, est considérablement exposé à ce genre de substances. De plus, cette espèce est omnivore et fréquente les milieux urbains, périurbains, agricoles et les dépotoirs : elle est donc en contact avec une myriade de contaminants.

Le but de cette étude était d'expliquer les profils de contamination aux PBDEs chez le goéland à bec cerclé par une nouvelle technologie de géolocalisation ainsi que par les analyses d'isotopes stables du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) et de l'azote ($\delta^{15}\text{N}$). Le premier objectif était la caractérisation du régime alimentaire par l'isotopie stable dans différents tissus ($\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ dans le plasma, les cellules sanguines et le foie) et par la géolocalisation, permettant une connaissance approfondie des aires d'alimentation visitées par chaque individu. Le second objectif était la compréhension du lien entre le profil de contamination aux PBDEs (plasma et foie), la signature isotopique (plasma et foie) et les aires d'alimentation visitées. Il était attendu que l'utilisation de l'isotopie stable en combinaison avec la géolocalisation permette d'expliquer les variations intraspécifiques des profils de contamination au sein de cette colonie. L'identification de ces aires a été réalisée par le suivi des oiseaux en nidification ($n=23$) munis de GPS miniatures (période de 24-30h, précision 5-10m). Selon ces données, les individus ont été classés selon trois habitats d'alimentation principaux : Agricole, fleuve Saint-Laurent et Anthropique (noyau urbain de Montréal, sites d'enfouissement, bassins d'eaux usées). Le ratio $\delta^{15}\text{N}$ des cellules sanguines était significativement plus bas chez les oiseaux classés dans le milieu Anthropique ($p = 0.04$), révélant entre autre l'influence de la nourriture transformée. La signature de carbone généralement terrestre a également souligné l'influence du milieu anthropique et agricole dans le comportement alimentaire de cette espèce, pourtant considérée comme piscivore facultative. Également, le ratio C:N (foie) ($p = 0.04$) et les ratios de la concentration de BDE-209 sur la concentration de BDE-47 (plasma) ($p = 0.03$) étaient plus élevés chez les oiseaux classés dans l'habitat d'alimentation Anthropique. Une exposition élevée au BDE-209 semble donc être reliée à l'utilisation des milieux anthropiques. En effet, ce congénère est encore aujourd'hui couramment utilisé par l'industrie chimique, contrairement au BDE-47 et BDE-99 qui sont bannis au Canada. Les

sources de BDE-209 sont donc principalement industrielles, et son rejet dans l'environnement urbain est constant. Finalement, cette étude a permis de révéler les avenues prometteuses de cette nouvelle approche, soit l'utilisation de l'isotopie stable combinée avec la géolocalisation comme marqueur d'alimentation et de contamination chez certains individus.

Mots clés : polybromodiphényléthers, isotopes stables, géolocalisation, régime alimentaire, Laridés

INTRODUCTION

L'industrialisation omniprésente sur les rives du Fleuve Saint-Laurent implique le déversement de plusieurs xénobiotiques, entre autres les polluants organiques persistants (POPs), dans l'écosystème aquatique. Cette contamination est assurément une menace pour la santé de la faune habitant cet écosystème, mais également pour les populations humaines à proximité. En effet, les zones fortement industrialisées en bordure de cette voie maritime importante contribuent de façon significative à la dégradation de la qualité de cet environnement. Les POPs, dont font partie plusieurs composés organohalogénés (OHs) comme les retardateurs de flammes bromés, peuvent avoir un effet dévastateur sur les écosystèmes aquatiques. En effet, ces substances sont connues pour leur potentiel de persistance environnementale, leur transport atmosphérique et leur transport via les courants marins sur de longues distances, ainsi que leur toxicité à plusieurs niveaux.

La production et l'utilisation de plusieurs tristement célèbres POPs ont cessé suite à la découverte de leurs effets toxiques. En effet, des substances comme les biphényles polychlorés (BPC) sont lipophiles, bioaccumulables, persistantes et toxiques, ce qui a mené à la cessation de leur production en 1977. Découlant de cette nouvelle législation, d'autres composés organohalogénés ont été synthétisés par l'industrie chimique pressée de remplacer les produits bannis par des alternatives offrant les mêmes propriétés et applications dans nos produits de consommation. Ceux-ci, présentant plusieurs similitudes au niveau physicochimique avec les BPCs, ont été utilisés pour leurs propriétés ignifugeantes en tant qu'additifs dans les produits d'usage courant. Les polybromodiphényléthers (PBDE) ont connu leur apogée dans les années 90, où leurs concentrations dans des spécimens biologiques aquatiques ont atteint leur maximum historique. Cependant, certaines formulations techniques des PBDEs, comme le penta- et octa-BDE, font l'objet de restriction au Canada depuis 2006, et le déca-BDE devrait connaître le même sort d'ici 2013 (Environnement Canada, 2011).

Sachant que les cours d'eau alimentant les régions industrialisées, comme le Fleuve Saint-Laurent, sont maintenant contaminés par ces PBDEs, il est impératif de bien comprendre la dynamique de mouvement des nutriments à travers la chaîne alimentaire afin

de mieux comprendre le cheminement des contaminants à l'étude, soit les PBDEs. L'alimentation est une source d'exposition connue pour certains congénères peu bromés, tel le BDE-47, qui a la capacité de se bioaccumuler à travers la chaîne trophique. Pour certains congénères fortement bromés, tel le BDE-209, les sources d'exposition peuvent être majoritairement environnementales, puisque ce congénère adhère fortement aux particules de l'air. Puisque les PBDEs possèdent plusieurs caractéristiques communes avec les POPs, on peut se questionner sur leur transfert trophique ainsi que sur l'impact réel d'une possible contamination sur les prédateurs supérieurs comme les oiseaux omnivores. Cependant, peu d'information est disponible quant à la dynamique de ces contaminants dans la chaîne alimentaire et leur devenir dans les organismes. Les oiseaux omnivores sont continuellement exposés à ces contaminants par le biais de leur alimentation et de leur environnement. De plus, certaines espèces, comme le goéland à bec cerclé (*Larus delawarensis*), fréquentent des milieux qui les confrontent de façon systématique à ce genre de substances. En effet, cette espèce omnivore visite les milieux urbains, périurbains, agricoles ainsi que les sites d'enfouissement technique. Par leur diète variée, ils peuvent nous informer sur la présence et les sources multiples des PBDEs dans leur milieu. Ces caractéristiques, ainsi que leur présence en grand nombre, leur facilité de capture et de recapture ainsi que la possibilité d'un suivi de plusieurs années sur la même colonie ont justifié le choix d'utiliser le goéland à bec cerclé comme espèce indicatrice dans cette étude. Récemment, des concentrations inquiétantes de PBDEs ont été retrouvées chez une colonie de goélands à bec cerclé nichant à l'Est de Montréal. En effet, ces concentrations sont dans les plus hautes jamais répertoriées chez une espèce aviaire (Gentes *et al.*, 2012). De plus, les niveaux de BDE-209 dans le foie de ces oiseaux urbains, souvent appelés « éboueurs des villes », se sont avérés être un résultat particulièrement étonnant. Du fait que le BDE-209 est caractérisé comme peu biodisponible, de par la taille importante de cette molécule et sa stabilité chimique, il n'était pas attendu de retrouver ce congénère en de si fortes concentrations, atteignant jusqu'à 163 ng/g (poids humide).

Afin de bien comprendre les sources des retardateurs de flamme de type PBDE, une connaissance approfondie du régime alimentaire et de l'utilisation de l'espace du goéland à

bec cerclé est nécessaire. Dans cette optique, cette étude avait pour principal objectif d'expliquer les concentrations de PBDEs et les variations dans les profils de contamination chez les goélands à bec cerclé, par l'utilisation de traceurs écologiques dans certains tissus spécifiques, ainsi que par l'analyse de leurs aires d'alimentation, déterminées par suivi GPS. L'utilisation d'une nouvelle technologie GPS a permis d'obtenir le suivi détaillé des mouvements des oiseaux afin de déterminer avec précision les sites d'alimentation visités, ainsi que leur importance relative pour chaque individu. Les isotopes stables de carbone ($\delta^{13}\text{C}$) et d'azote ($\delta^{15}\text{N}$) ont été utilisés en tant que traceurs écologiques afin de caractériser le type de régime alimentaire de chaque individu. L'analyse des contenus stomacaux a également été utilisée afin de corroborer les interprétations découlant des analyses isotopiques. Le présent document est divisé en trois chapitres et est présenté sous forme de mémoire par articles. Le premier chapitre porte sur l'état des connaissances ainsi que sur la justification de ce projet de recherche. On y retrouve alors des informations portant sur la contamination aux ignifuges bromés, l'utilisation des isotopes stables, l'utilisation de la télémétrie ainsi que la justification de l'espèce utilisée. Le second chapitre, rédigé sous forme d'article scientifique en anglais, porte sur le comportement alimentaire du goéland à bec cerclé, interprété par les isotopes stables et la télémétrie par suivi GPS. Enfin, le troisième chapitre, également rédigé sous forme d'article scientifique en anglais, se consacre à l'analyse des profils de contamination des goélands à bec cerclé, caractérisés par les fortes concentrations de BDE-209, par les analyses d'isotopes stables et les données d'utilisation d'habitats.

1 CHAPITRE I
ÉTAT DES CONNAISSANCES

1.1 Contamination du milieu aquatique par les composés organohalogénés

1.1.1 Le Fleuve Saint-Laurent

Depuis le 20^e siècle, l'urbanisation des rives du Fleuve Saint-Laurent, l'activité agricole et l'industrialisation croissante ont contribué à la détérioration significative de la qualité de cet important cours d'eau. Afin de protéger cet écosystème essentiel, plusieurs actions ont été entreprises depuis les années 1970. Ces actions se sont concentrées dans l'amélioration de la qualité des eaux usées municipales ainsi que dans la réduction des déchets agricoles. Cependant, le Fleuve Saint-Laurent est toujours contaminé par une myriade de polluants organiques, notamment les composés organochlorés (BPC, DDT, etc.).

En réponse à leurs caractéristiques de persistance, de propension à la bioaccumulation et bioamplification et leur toxicité, ces organochlorés ont fait l'objet de plusieurs suivis environnementaux. Par exemple, les BPCs, qui sont apparus au début du 20^e siècle, ont été massivement utilisés comme lubrifiant ou isolateur. Peu solubles dans l'eau, ces composés sont donc rapidement stockés dans les sédiments et dans les organismes. Leur caractère de perturbateur endocrinien ainsi que leur potentiel carcinogène ont inquiété la communauté scientifique. Face à cette menace pour la santé publique, leur production a cessé en 1977. Au début des années 1980, d'autres substances présentant une structure similaire aux BPCs ont été mises sur le marché. Ces nouvelles substances, utilisées pour leurs propriétés ignifugeantes, sont les polybromodiphényléthers (PBDE). Puisque le Fleuve Saint-Laurent est une zone particulièrement industrialisée, ces produits sont retrouvés à tous les niveaux trophiques ainsi que dans les composantes abiotiques de cet écosystème. Non seulement les PBDEs sont présents dans l'écosystème du Saint-Laurent, mais ils ont connu une augmentation dramatique de 1995 à 2000. La baisse de leur utilisation et de leur production se fait maintenant sentir: les concentrations de plusieurs congénères principaux des PBDEs (ex. BDE-47, -99 et -100) retrouvés dans les œufs de goélands argentés des Grands Lacs

plafonnent depuis 2000 (Gauthier *et al.*, 2008). Cependant, une nouvelle tendance concernant les congénères fortement bromés, comme le BDE-209, se dessine depuis peu. En effet, l'exposition à ce congénère est en hausse chez plusieurs espèces fauniques évoluant dans des environnements près des centres urbains. Par exemple, le goéland à bec cerclé nichant à l'Est de Montréal présente des concentrations hépatiques de BDE-209 parmi les plus hautes répertoriées chez les espèces aviaires (Gentes *et al.*, 2012).

Ces composés bromés présentent certaines propriétés méritant notre attention: liposolubilité, bioaccumulation et bioamplification, métabolites potentiellement toxiques. À la lumière de ces informations, plusieurs pays ont réglementé de façon très stricte l'utilisation et la production des PBDEs. En 2006, les mélanges techniques penta-BDE (composé majoritairement de BDE-47 et BDE-99) et octa-BDE (composé entre autre de BDE-153 et BDE-183) ont été bannis au Canada. Cependant, le mélange déca-BDE (composé à plus de 97% du congénère BDE-209) est encore couramment utilisé comme additif dans nos produits de consommation, quoique certaines restrictions sont à prévoir pour 2013 au Canada (Environnement Canada, 2011). Le déca-BDE, mélange à forte teneur en brome, est à surveiller car il est très persistant dans l'environnement, malgré sa théorique faible biodisponibilité. En effet, sa grande taille moléculaire ainsi que la valeur élevée de son coefficient de partage octanol-eau ($\log K_{ow}$) semble diminuer la biodisponibilité de ce composé (Environnement Canada, 2010).

1.1.2 Exposition aux PBDEs

Les sources d'émission de ces composés sont essentiellement industrielles et affectent directement les populations humaines et la faune évoluant dans ces zones urbanisées. En effet, plusieurs pays, dont le Canada et les États-Unis, sont de grands consommateurs de ces substances. Les principales sources de ces ignifuges sont les produits électroniques, les textiles, les meubles et les matériaux de construction (De Wit, 2002). Dans ces produits d'usage courant, les retardateurs de flamme sont « additifs », c'est-à-dire qu'ils ne sont pas liés chimiquement à la matrice, mais plutôt ajoutés aux produits manufacturés et répartis

de façon homogène sur celui-ci. Pendant la durée de vie de ces produits, leur usure engendre l'émanation des molécules de composé ignifuge, qui se fixent aux particules dans l'air ambiant. De plus, après avoir jeté ces biens, ces molécules s'échappent tout de même des produits et peuvent alors contaminer les écosystèmes environnants (De Wit, Herzke et Vorkamp, 2010). Il a été démontré qu'aux sites de recyclage, d'enfouissement et de traitement des eaux usées, l'environnement était particulièrement contaminé aux retardateurs de flammes (De Wit, Herzke et Vorkamp, 2010).

Les espèces aviaires évoluant dans des écosystèmes affectés par l'activité humaine, comme le goéland à bec cerclé, sont donc plus susceptibles d'être fortement exposées aux retardateurs de flammes. Parallèlement, il a été démontré que plusieurs congénères des PBDEs, comme le BDE-47 et BDE-99, sont bioaccumulables chez les organismes via la chaîne alimentaire. Les organismes de niveaux trophiques supérieurs y sont donc exposés en grande partie par l'alimentation. De plus, de récentes études ont établi un lien entre les habitats de certaines espèces d'oiseaux, situés près des centres urbains, et leurs niveaux de contamination au BDE-209 (Potter *et al.*, 2009). Le BDE-209, quoi qu'initialement perçu comme peu biodisponible, se retrouve en fortes concentrations chez plusieurs organismes depuis les dernières années, comme le goéland à bec cerclé (Gentes *et al.*, 2012) et ce, particulièrement chez des espèces évoluant dans des milieux terrestres et urbanisés. En effet, il a été récemment démontré qu'une considérable contamination aux PBDEs fortement bromés (PBDE₁₈₃₋₂₀₉) serait corrélée avec le régime alimentaire ainsi que la densité de population humaine à proximité d'oiseaux comme le faucon pèlerin (*Falco peregrinus*) (Newsome *et al.*, 2010a). Dans le cas du BDE-209, l'adhérence de ce congénère aux poussières ainsi que la consommation de déchets dans les milieux urbains seraient des causes non négligeables d'expositions (Voorspoels *et al.*, 2006).

1.1.3 Les retardateurs de flamme de type PBDE: particularités et toxicité

Les mécanismes de transfert des retardateurs de flammes de type PBDE à travers la chaîne alimentaire des oiseaux sont peu étudiés. Par ailleurs, ces composés, constitués de carbone et d'atomes halogènes, détiennent leur stabilité environnementale, et ainsi leur persistance,

grâce aux liaisons carbone-halogène. Il a été démontré qu'une exposition à certains retardateurs de flammes pouvait entraîner des déficiences au niveau du système immunitaire, du système reproducteur ainsi que sur le développement général (Muir et De Wit, 2010). De plus, quelques congénères comportent une similarité structurale avec la thyroxine, une hormone cruciale dans le développement de l'organisme, et peuvent donc perturber les taux sériques d'hormones thyroïdiennes (Fernie *et al.*, 2005). Ces perturbations du système endocrinien ont été observées chez deux espèces d'oiseaux piscivores, soient le goéland argenté (*Larus argentatus*) des Grands Lacs et le goéland bourgmestre (*Larus hyperboreus*) en Arctique (Ucan-Marín *et al.*, 2009).

1.2 Utilisation des traceurs écologiques

1.2.1 Utilisation des isotopes stables comme traceurs écologiques

Les niveaux de contamination chez les prédateurs, comme les oiseaux omnivores, sont intimement reliés à la structure de la chaîne alimentaire. L'exposition de ces organismes à certains polluants dépend de la contamination de leur habitat, de leur capacité métabolique et également de leur régime alimentaire (Persic, 2004). Puisque le goéland à bec cerclé a une alimentation diversifiée et qu'il se situe à des niveaux trophiques supérieurs, il peut nous renseigner sur les niveaux de contamination aux retardateurs de flammes de type PBDE de son milieu. La détermination du niveau trophique et des habitudes alimentaires sont des éléments essentiels dans cette étude, mais demeurent assez complexes.

Traditionnellement, l'analyse du contenu stomacal était la méthode la plus utilisée afin de déterminer le type de régime alimentaire. Cependant, une identification précise de la nature des proies est difficilement réalisable, puisque celles-ci sont souvent partiellement digérées. Afin de pallier ces limites, l'isotopie stable peut être utilisée pour établir un lien entre le niveau trophique, ou le type de régime alimentaire, et la contamination à des substances chimiques. Certaines études ont d'ailleurs utilisé, avec succès, les isotopes stables comme un outil de compréhension de l'exposition alimentaire aux retardateurs de flammes (Hebert *et al.*, 2009b ; Hebert et Weseloh, 2006). Les isotopes stables sont des marqueurs écologiques peu coûteux et efficaces dans la détermination du mouvement des

nutriments et des contaminants à travers les réseaux alimentaires (Hebert, Arts et Weseloh, 2006). L'analyse isotopique de certains tissus permet, d'une part, de déterminer les différentes sources alimentaires de la diète d'un organisme, et d'autre part l'importance de chacun des aliments (Tykot, 2004). Cette méthode mesure le rapport des isotopes légers et lourds du carbone et de l'azote. Tout au long de la chaîne alimentaire, il y a un enrichissement naturel de ces éléments dans les tissus. Cet enrichissement constant entre deux niveaux trophiques est de l'ordre de 3-5‰ pour l'azote, et de 1-3‰ pour le carbone (Persic, 2004). Les valeurs isotopiques de ces deux éléments fournissent différentes informations. En effet, les valeurs isotopiques de l'azote sont un bon indicateur du niveau trophique de l'organisme étudié. Le taux d'enrichissement du carbone est généralement utilisé afin de déterminer les sources de carbone à la base de la chaîne alimentaire. De cette façon, il est possible d'évaluer le cheminement du carbone à partir des producteurs primaires, chacun possédant une signature isotopique différente due au fractionnement différentiel des isotopes stables de carbone pendant la photosynthèse (Kelly, 2000).

L'analyse des isotopes stables dans différents tissus permet d'observer les aspects de l'alimentation des oiseaux pendant plusieurs périodes de leur vie : migration, période de reproduction, nidification. Ceci est possible puisque les différents tissus reflètent les ratios d'isotopes stables contenus dans la diète d'un individu au moment de la synthèse du tissu (Bond, 2010). Le foie, par exemple, reflète une assimilation de nutriments et une contamination correspondant à quelques jours, et permet de déterminer le caractère lipophile des substances étudiées (Abend et Smith, 1997; Hobson and Clark, 1992; Pearson et al, 2003). La signature isotopique du plasma, quant à elle, est un bon indicateur de la contamination à court terme reliée aux nutriments récemment assimilés. Il a été effectivement démontré que la demi-vie des isotopes dans le plasma est relativement courte (1-4 jours) (Abend et Smith, 1997; Bauchinger and McWilliams, 2009; Hobson and Clark, 1992; Pearson et al, 2003). Chez les colonies d'oiseaux omnivores, comme les goélands à bec cerclé, il y a une grande variation entre les individus au niveau de leur diète. En effet, leur environnement et leur comportement alimentaire sont fortement influencés par l'activité humaine. La diminution de l'abondance des proies et l'introduction de nouvelles sources

alimentaires anthropiques comme les déchets et la nourriture transformée sont des conséquences de l'activité humaine à proximité des aires de nidification de ces oiseaux. Un changement de comportement alimentaire, caractérisé par exemple par une consommation moindre de poissons pour faire place à une plus grande quantité d'invertébrés ou de déchets, influencera les valeurs d'isotopes stables (Hebert *et al.*, 2009b). Enfin, chaque individu peut avoir accès à différentes sources alimentaires, ce qui peut entraîner une forte variation de la contamination aux PBDEs (type de composés retrouvés ainsi que leurs concentrations) dans une même colonie.

À ce jour, l'isotopie stable est déjà bien établie dans le domaine de l'écotoxicologie. Cette méthode d'analyse efficace a d'ailleurs permis de mettre en lumière certaines informations essentielles à la compréhension de l'exposition aux contaminants par l'alimentation. Par exemple, il a été démontré que les niveaux de contamination aux PBDEs de plusieurs espèces de poissons du Lac Winnipeg étaient intimement liés au niveau trophique, déterminé à partir des ratios d'isotopes stables d'azote (Law *et al.*, 2006). Cette même relation a pu être corroborée par d'autres études sur les Laridés (Lavoie *et al.*, 2010 ; Zhang *et al.*, 2011). L'analyse des isotopes stables présente cependant certaines limites et une erreur considérable, puisqu'elle est souvent utilisée sans connaissance approfondie des stratégies alimentaires des organismes étudiés.

1.3 Suivis des oiseaux par biotélémétrie GPS

Les avancées dans le domaine des micro-technologies permettent à ce jour l'utilisation d'outils performants afin de comprendre les comportements alimentaires et l'utilisation de l'espace des oiseaux, entre autre en période de nidification. Depuis les 20 dernières années, des technologies de télémétrie ont été utilisées afin de mieux comprendre l'écologie des oiseaux. En effet, le suivi satellitaire a permis d'approfondir nos connaissances sur les trajets migratoires, les lieux d'hivernage, la santé des populations d'oiseaux suivis, la caractérisation des sites de reproduction ainsi que les stratégies alimentaires. Le suivi par satellite, le PTT (Platform Terminal Transmitter) a été abondamment utilisé pour suivre les mouvements des oiseaux sur de longues distances. Ce dispositif permet d'obtenir la localisation de l'oiseau

chaque 90 secondes. Son efficacité est toutefois limitée par le nombre de satellites disponibles pour la transmission, la qualité du transmetteur ainsi que la vitesse de l'animal (Phillips *et al.*, 2008). Récemment, l'étude des mouvements des oiseaux est devenue plus efficace et précise grâce à la technologie GPS (Global Positioning System). En effet, ces enregistreurs automatiques, relativement légers (moins de 15 g), obtiennent de meilleures précisions (environ 5-10 mètres) et envoient des données de localisation toutes les quelques secondes.

Les oiseaux omnivores, comme le goéland à bec cerclé, visitent une myriade d'environnements lors de leurs trajets destinés aux périodes d'alimentation. L'utilisation d'habitats agricoles, urbains ou aquatiques est susceptible d'engendrer une signature isotopique particulière ainsi qu'un profil de contamination spécifique. En effet, des études récentes ont démontré que la fréquentation de milieux fortement urbanisés par le goéland argenté et le renard nain (*Vulpes macrotis*), par exemple, se reflétait par une signature isotopique de carbone de source terrestre ainsi que par une signature isotopique d'azote significativement plus basse, lorsque comparée à une population évoluant dans un environnement plus naturel (Auman *et al.*, 2011 ; Newsome *et al.*, 2010b). Récemment, la technologie GPS a été utilisée en association avec les analyses d'isotopes stables. En effet, les données de suivis GPS ont permis d'investiguer les différents comportements et stratégies alimentaires, afin de corroborer les interprétations des analyses isotopiques (Votier *et al.*, 2010 ; 2011). De plus, les sources des PBDEs, surtout les congénères fortement bromés (ex. BDE-209), sont essentiellement industrielles et urbaines. L'utilisation de la géolocalisation par GPS permet donc de mieux comprendre le comportement alimentaire des oiseaux omnivores exploitant ces types d'habitats, et ainsi expliquer les profils de contamination potentiellement associés à ces régions.

1.4 Le Goéland à bec cerclé

1.4.1 Utilisation du Goéland à bec cerclé en tant qu'espèce sentinelle

L'utilisation d'espèces bioindicatrices en écotoxicologie permet de révéler la présence de changements dans leur écosystème. Dans la présente étude, le goéland à bec cerclé a été choisi comme espèce indicatrice. La taille importante de la colonie, sa présence dans des milieux urbains, périurbains, agricoles et sites d'enfouissement technique, sa facilité de capture, sa stratégie alimentaire omnivore ainsi que son niveau trophique supérieur sont des caractéristiques qui font du goéland à bec cerclé une espèce intéressante à utiliser dans cette étude. De plus, ce Laridé niche près de zones particulièrement contaminées, ce qui l'expose à une panoplie de substances, dont les ignifuges de type PBDE. En effet, Gentes *et al.* (2012) ont récemment répertorié de hauts niveaux de contamination de PBDEs chez cette colonie, et ont également observé une grande variation dans les concentrations individuelles de certains congénères. Finalement, la stratégie alimentaire de cet oiseau traduit de la qualité de son environnement, et sa position élevée dans la chaîne trophique le rend plus vulnérable aux polluants bioaccumulables.

1.4.2 Écologie du Goéland à bec cerclé

Le goéland à bec cerclé fait partie de l'ordre des Charadriiformes et de la famille des *Laridae*. Cette espèce, évoluant en régions côtières, est retrouvée dans le nord des États-Unis ainsi qu'au sud du Canada (Nellis, 2001). Cet oiseau présente une taille moyenne d'environ 50 cm et un poids de 550 g pour les mâles adultes, et 47 cm et un poids de 470 g pour les femelles (Ryder, 1993).

Au début du 20^e siècle, cette espèce a connu une forte explosion démographique. (Brousseau, Lefebvre et Giroux, 1996). Depuis quelques années, leur population semble stagner. Les goélands à bec cerclé font leur arrivé dans la région montréalaise au mois de mars. La formation des couples s'effectue en avril, lorsque les mâles poussent des cris vers

les femelles en vol. Ces cris ont pour effet de diminuer l'hostilité entre les mâles et les femelles, permettant ainsi la création des couples reproducteurs (Nellis, 2001). Les couples de goélands à bec cerclé se partagent l'incubation ainsi que l'élevage des jeunes. Avant la période de reproduction, les couples établissent les nids au sol, et ceux-ci serviront de repère pour les nids des années suivantes. Après la période de reproduction, le goéland à bec cerclé passe la majeure partie du temps à voler entre la colonie et les sites d'alimentation. Entre les mois de juillet et septembre, lorsque les oisillons sont autonomes, les colonies commencent leur migration pour l'hiver, vers les Grands Lacs et le Golfe du Mexique (Nellis, 2001).

1.4.3 Stratégie alimentaire

La recherche de nourriture s'effectue le matin et le soir, où les individus s'éloignent du nid afin de parcourir les milieux environnants. Cette espèce est qualifiée d'omnivore ou de piscivore facultative : elle peut adapter son régime alimentaire par rapport à son environnement (Brousseau, Lefebvre et Giroux, 1996). Puisque les aires de nidification peuvent se situer dans des zones urbaines ou agricoles, la diète des individus de ces colonies et l'assimilation de polluants, seront fortement influencées par l'emplacement de la colonie. Une récente étude portant sur le comportement alimentaire et l'utilisation de l'espace du goéland à bec cerclé a d'ailleurs corroboré l'influence des zones urbanisées chez cette espèce. En effet, la présence de goélands dans les sites d'enfouissement technique est généralement reliée au comportement alimentaire (Patenaude-Monette, 2012). Toutefois, les mesures d'effarouchement à ces sites semblent diminuer leur accessibilité. Cette même étude a également confirmé que les terres de cultures intensives constituent le milieu le plus utilisé par les goélands de la colonie de l'île Deslauriers. Patenaude-Monette (2012) a également noté que ce Laridé utilise une quantité significative d'arthropodes, d'annélides et de déchets comestibles comme sources alimentaires. Cette observation est en accord avec l'étude de Brousseau, Lefebvre et Giroux (1996), qui stipulait que les goélands à bec cerclé se nourrissent également de poissons, de vers de terres, de petits mammifères, d'insectes et aussi de détritus. Le comportement « d'éboueur » du goéland à bec cerclé pourrait l'exposer de façon particulière aux retardateurs de flammes, et ce par la fréquentation de milieux urbains,

ainsi que par le toilettage de leur plumage où certains polluants organiques peuvent s'y être adhérents.

1.5 Objectifs

Certains PBDEs sont actuellement retrouvés chez plusieurs prédateurs des niveaux trophiques supérieurs, entre autre chez le goéland à bec cerclé de l'île Deslauriers (Gentes *et al.*, 2012). Puisque certains congénères des PBDEs sont ou sont soupçonnés d'être bioaccumulables, il est attendu que l'alimentation soit une source non négligeable d'exposition à ces substances. De plus, la diète variée du goéland à bec cerclé ainsi que la fréquentation de milieux urbains par certains individus pourraient être des causes des grandes variations observées au sein des niveaux de PBDEs détectés.

L'objectif principal de ce projet de recherche était d'expliquer les variations dans les profils de contamination aux PBDEs chez le goéland à bec cerclé nichant à l'île Deslauriers et d'en déterminer les sources d'exposition, par l'étude du régime alimentaire et de l'utilisation individuelle de l'habitat. Pour y parvenir, nous avons utilisé trois outils d'analyses :

- 1) La géolocalisation : cette méthode d'analyse télémétrique a permis de déterminer les aires d'alimentation visitées par les goélands à bec cerclé. Ces données ont mis en évidence les préférences de sites alimentaires de certains individus, visitant alors les habitats d'alimentation en proportions fortement inégales.
- 2) Isotopes stables de carbone (^{13}C) et d'azote (^{15}N): ces analyses ont permis de mettre en lumière les sources de carbone liées au régime alimentaire de chaque individu ainsi que d'évaluer leur position trophique. L'alimentation omnivore de cette espèce a donc pu être confirmée par l'observation de variations intraspécifiques au niveau des signatures isotopiques.
- 3) Contenus stomacaux : ces analyses ont permis d'identifier certaines des composantes du régime alimentaire des individus étudiés.

2 CHAPITRE II

COMBINED USE OF STABLE ISOTOPE SIGNATURE AND GPS-BASED TELEMTRY TO UNDERSTAND THE FEEDING ECOLOGY OF RING-BILLED GULLS IN A HETEROGENEOUS LANDSCAPE

CARON-BEAUDAIN, Élyse¹; GENTES, Marie-Line¹; HÉLIE, Jean-François²; GIROUX,
Jean-François³ and VERREAULT, Jonathan^{1*}

¹ Centre de recherche en toxicologie de l'environnement (TOXEN), Département des
sciences biologiques, Université du Québec à Montréal, Montréal, QC, Canada

² Centre de recherche en géochimie et géodynamique (GEOTOP), Université du Québec à
Montréal, Montréal, QC, Canada

³ Groupe de recherche en écologie comportementale et animale (GRECA), Département des
sciences biologiques, Université du Québec à Montréal, Montréal, QC, Canada

2.1 Abstract

Stable isotopes are used as ecological tracers to understand food web structure and diet of avian species. However, interpretation of stable isotopes without a clear comprehension of foraging behaviour can be misleading, especially with omnivorous species. The use of other techniques, such as GPS-based telemetry in combination with stable isotope analyses is an interesting alternative that can generate strong inferences, and may be necessary to avoid weak associations. The aim of this project was to investigate the feeding ecology of an urban-nesting avian species, the ring-billed gull (RBGU), using stable isotope analysis in combination with miniature bird-borne GPS tracking and stomach content analysis. RBGUs from a large colony located near Montréal (QC, Canada) – a highly urbanized area – were GPS-tracked during the breeding season to follow their movements for approximately 30 hours. Stable isotope ratios of carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) and the ratio of the carbon and nitrogen total content (C:N) were determined in plasma, blood cells and liver. Stomach contents were examined to obtain information about diet composition. Based on GPS data, RBGUs were categorized in three major foraging habitats: Agricultural, St-Lawrence River and Anthropogenic (including Montréal city centre, wastewater basins and landfills). Stable isotopes analysis indicated that this RBGU population relies mostly a terrestrial/freshwater diet. Interestingly, RBGUs that foraged predominantly in Anthropogenic habitat had a lower $\delta^{15}\text{N}$ in blood cells, and a higher C:N ratio in liver. GPS data, which indicated frequent visits to areas of high human density among RBGUs from the Anthropogenic foraging habitat group, suggest that the consumption of processed food could explain these unusual trends in C:N ratios and $\delta^{15}\text{N}$ values. It was also found that stable isotope signatures were very similar among the three tissues, which may suggest dietary preferences during the breeding season. Moreover, important intra-specific variations were noticed in isotopic signatures among birds from this single colony, as could be expected from their omnivorous diet.

Keywords: Polybrominated diphenyl ether, BDE-209, stable isotopes, GPS tracking, feeding ecology, bird

2.2 Introduction

Stomach content analysis is an example of conventional techniques sometimes used in the investigation of feeding ecology in birds. However, stomach content composition reflects short-term dietary intake, and identification of food items may represent a daunting task due to differential digestion of prey items (Hobson, Piatt and Pitocchelli, 1994). Ecological tracers including stable isotopes are increasingly being used to overcome those limitations. Indeed, stable isotopes allow investigation of avian feeding ecology at different life periods, as they reflect nutrient and energy assimilation from the diet at the time of tissue synthesis (Bond, 2010, Hebert, Arts and Weseloh, 2006). The use of stable isotope of carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) has thus become a powerful tool for the understanding of the structure of food webs and the feeding ecology of a range of species, including terrestrial and aquatic birds (Hebert *et al.*, 2009a; Hobson, 2009; Jensen *et al.*, 2012; Stowasser *et al.*, 2012). Consumers generally exhibit enrichment of ^{15}N by 3.4 δ units at each trophic level, while $\delta^{13}\text{C}$ shows limited trophic enrichment (1 δ unit). Carbon stable isotopes have traditionally been used to trace carbon sources in terrestrial and aquatic food chains (Minagawa and Wada, 1984). Typical tissue $\delta^{13}\text{C}$ signatures range between -16 and -20‰ for terrestrial-based trophic chains, and between -20 and -26‰ for freshwater-based trophic chains (Bearhop *et al.*, 1999). Isotopic discrimination assessed using organic carbon to nitrogen ratios (C:N) has also been used as complementary tool to investigate the diet of birds (Pearson *et al.*, 2003; Robbins, Felicetti and Felicetti, 2005).

In predominantly fish-eating birds such as most Larids (gulls), important intra- and inter-specific variations in feeding ecology and dietary preferences have been reported. These habits have been shown to be highly influenced by prey abundance and proximity to human settlements. Gulls breeding near large cities may thus benefit from a diversity of anthropogenic food sources (landfills, mismanagement of refuse, food handouts, etc.), particularly in years of low prey abundance (Auman *et al.*, 2011; Duhem *et al.*, 2008; Hebert *et al.*, 2009a). In herring (*Larus argentatus*) and yellow-legged gulls (*L. michahellis*), consumption of human refuse has been studied using $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ signature in eggs and

feathers (Hebert, Arts and Weseloh, 2006, 2009; Ramos *et al.*, 2009). Individuals consuming mostly human refuse (mainly processed foods) in landfills were shown to exhibit lower $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ in feathers (Ramos *et al.*, 2009). Processed foods such as meat products are generally characterized by low $\delta^{15}\text{N}$ signatures compared with relatively high and variable $\delta^{15}\text{N}$ values in unaltered foods from natural food webs (Newsome *et al.*, 2010).

While being a powerful tool to understand food web structure in avian species, stable isotope profiling is not currently fully exploited, as it requires a thorough knowledge of the individual's habitat-use strategies and feeding ecology, which can be nearly impossible in free-ranging birds due to a lack of appropriate technology. One efficient method to improve that knowledge of habitat use and foraging strategies of free-ranging birds is to GPS-track their movements for a given period. The recent development of miniature data-logging GPS units affixed on birds now permits precise reconstruction of their journey for a few days (Burger and Shaffer, 2008; Dell'Arciccia *et al.*, 2008; Freeman *et al.*, 2010). The effectiveness of GPS-based techniques is now well recognized, and has offered an improved level of accuracy for direct quantification of foraging movements at the landscape level in various marine and aquatic birds (Grémillet *et al.*, 2004; Guilford *et al.*, 2008; Phillips *et al.*, 2008; Patenaude-Monette, 2012). Only recently, this technique has been used in combination with stable isotope analysis (Votier *et al.*, 2010, 2011).

The objective of this study was to investigate the feeding ecology of ring-billed gulls (*Larus delawarensis*) (RBGUs) nesting close to a highly urbanized area and within heterogeneous landscapes (Montréal Metropolitan Community, Québec, Canada). The landscape composition, characterized as heterogeneous, was previously defined by Patenaude-Monette (2012) using the proportion of different categories of habitats, like agricultural lands, urban area, water, forest, etc. A combination of carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen stable isotope ($\delta^{15}\text{N}$) signatures in tissues and GPS-based tracking information of individual birds from a single breeding colony was used to address this objective. Based on known tissue turnover rates of carbon and nitrogen in birds, plasma, blood cells and liver were selected to investigate the isotopic signatures of dietary components over a short (one day: plasma), medium (few days: blood cells) and longer time frame (10-20 days: liver) (Bauchinger and McWilliams, 2009; Bearhop *et al.*, 2002; Hobson and Clark, 1993; Pearson

et al., 2003). The unique feeding ecology of the RBGUs makes this species particularly well-suited to investigate the associations between foraging strategies and stable isotope signatures in tissues. First, the RBGU feeds upon a wide diversity of food items obtained from different types of habitats including anthropogenic areas (cities, landfills, wastewater basins, etc.), agricultural fields, lakes and rivers (Brousseau, Lefebvre and Giroux, 1996; Ryder, 1993). Hence, this may contribute to the establishment of gradients in stable isotope signatures within a single population given that gulls may exhibit preference on certain food items (Spear, 1993). Second, this species is abundant in North America, which allows researchers to collect adequate sample sizes. The population size is now more stabilized, but its demographic increase in the late 1970s has been partly associated with a greater availability of food items of anthropogenic origin (Belant, Ickes and Seamans, 1999).

2.3 *Materials and Methods*

2.3.1 Field work and sample collection

Fieldwork was carried out in April and May 2010 on Deslauriers Island; a 600-m long island located 3.2 km downstream from the north-eastern tip of Montréal in the St-Lawrence River (Québec, Canada). This island is an ideal area to study RBGUs as it hosts 50,000 breeding pairs annually (IBA Canada, 2000) and is located amidst a diversity of habitats and feeding sites (rivers, lakes, intensive agricultural land use, city of Montréal, landfills, etc.). Details on the study area can be found in Gentes *et al.* (2012). Randomly-selected nests were marked within the entire colony at the beginning of the incubation period. At least three days following clutch completion (i.e., 3 eggs laid), 17 males and 5 females RBGU were live-captured on their nest using a nest trap triggered from a distance by a radiotransmitter (Bustnes *et al.*, 2001). Birds were identified using a US Fish & Wildlife steel ring and a color-coded plastic band. A 3-mL blood sample was collected from the brachial vein using a heparinized 5-mL syringe. Following blood sampling and morphometric measurements (head, culmen, tarsus and wing length, and body mass), each bird was equipped with a miniature global positioning system (GPS) data logger (model GiPSy2 by TechnoSmArt®, Guidonia, Rome, Italy) affixed on tail feathers (i.e., two central rectrices) using waterproof TESA tape (model no. 4651, Charlotte, NC, USA). The total weight of the GPS data loggers (range: 12-16 g) represented less than 3% of the RBGU's body mass (mean: 514 g), and we assumed they have negligible impact on the flight performance of RBGUs. Birds were recaptured 2-3 days later, the GPS unit was recovered, and a final blood sample was collected from all individuals following methods described above. RBGUs were euthanized by cervical dislocation shortly after final blood sampling, and partial G.I. tract (oesophagus, proventriculus, gizzard and stomach) and liver were removed. Blood, partial G.I. tract and liver samples were kept on ice in a cooler in the field until they were processed in the laboratory within 8 hours of collection. In the laboratory, blood samples were centrifuged (7 min; 2500 x g), and plasma and blood cells were stored in a freezer (-20°C) for stable isotope analysis (section 2.4). Liver and partial G.I. tract samples were also transferred to a -20°C

freezer. Methods used for bird capture and handling were approved by the Institutional Committee on Animal Care (CIPA) of the Université du Québec à Montréal (UQAM), and complied with guidelines of the Canadian Council on Animal Care (CCAC).

2.3.2 GPS data analysis

Data retrieved from the GPS data loggers included geographical positions every four minutes (5-10 m precision), speed and altitude. Preliminary inspection of raw GPS data (verification of GPS unit's functionality and determination of areas visited by each RBGU) was performed using a high-resolution Google Earth map. Using the software ArcGIS (ESRI, Redlands, CA, USA) and agricultural and topographic data, a detailed habitat map of the greater Montréal area was then constructed (Patenaude-Monette, 2012). This map encompassed the entire home range of RBGUs nesting on Deslauriers Island and delimited all land-use types for this region (forest, lakes, several types of agricultural lands, including pastures and grass, as well as several types of habitats impacted by human activities such as urban areas, landfills and wastewater basins).

GPS positions downloaded from the Gypsie Units were projected on this habitat map and each position was associated with its underlying land-use type while retaining information about bird speed. A large Excel dataset was then created from these data so that the proportion of time spent in each of the land-use types could be calculated and so that further data processing could be performed. Data processing included removing positions considered as “commuting” rather than foraging i.e., flying at a speed above 4km/h (Shamoun-Baranes *et al.*, 2011), removing positions on colony grounds (also not associated with foraging) and grouping similar habitat types. All foraging positions located in urbanized areas (urban, landfills and wastewater basins) were identified as “anthropogenic”, all positions downstream and upstream from the colony were identified as “St-Lawrence River” and all positions pertaining to agriculture were identified as “Agricultural”. Human-impacted areas were divided into Agricultural and Anthropogenic habitats in response to the availability of different food items (garbages and transformed food in opposition with insects and corn, as example). During the course of our GPS-tracking, RBGUs did not forage in lakes or forested areas. The end result of these data processing steps was a smaller database

summarizing the foraging activities of each bird: i.e., the proportion of time spent foraging in Agricultural, Anthropogenic and St-Lawrence habitats.

Two criterias were then used to classify the birds in one of these three main foraging habitats: 1) the individual had to spend more than 50% of its non-flying time in this particular foraging habitat, and 2) less than 35% of its non-flying time in the second most visited foraging habitat. Individuals that did not respect those criteria were excluded from further analysis.

2.3.3 Partial G.I tract content analysis

In the laboratory, partial G.I. tracts were thawed at room temperature and opened up with a scalpel. Food items were divided into five main categories: invertebrates (e.g., insects, millipedes and earthworms), vertebrates (e.g., fish and small mammals), plant parts (e.g., corn and grass), non-edible refuse (e.g., food packaging) and edible refuse (e.g., anthropogenic-related food items). Invertebrates were identified to the species level whenever possible using published keys (Dubuc, 2009). All food item categories were weighed (wet weight), dried for one week at low temperature (30°C) and weighed again (dry weight) to provide proportional estimates of each food item category by individuals.

2.3.4 Stable isotopes analysis

Stable carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) isotope analyses in RBGU plasma, blood cells and liver samples were conducted at the Centre de recherche en géochimie et géodynamique (GEOTOP) of the UQAM (Montréal, Canada). Aliquots of homogenized liver and blood cells samples were freeze-dried (Labconco™ Freeze dry system Freezone 12, Labconco, Kansas City, USA) and grounded into a homogenous free-flowing powder. Aliquots of water-free plasma (dried at room temperature), blood cells and liver sample aliquots were loaded into tin cups, and weighed (0.001 mg precision) using an electronic microbalance. Plasma and liver samples were not lipid-extracted because a previous study using the same RBGUs as in the present study reported low lipid contents in those samples (3.8% and 0.74% in liver and plasma, respectively) (Gentes *et al.*, 2012), and because lipid extraction may

contribute to artificial enrichment in ^{15}N in these samples (Hoffman and Sutton, 2010), which was an undesirable effect. Stable carbon and nitrogen isotope measurements were carried out using a continuous flow isotope ratio mass spectrometer (Micromass IsoprimeTM, Cheadle, UK) coupled with an elementary analyser (Carlo Erba NC1500TM, Milan, Italy). Results were expressed in delta notation (δ) relative to an international standard (R_{standard} = Vienna PeeDee Belemnite for $\delta^{13}\text{C}$ and atmospheric air for $\delta^{15}\text{N}$) in per mil (‰) according to the equation: $\delta X = [(R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}}) - 1] \times 1000$, where X denotes either ^{13}C or ^{15}N and R represents the ratio of $^{13}\text{C}:^{12}\text{C}$ or $^{15}\text{N}:^{14}\text{N}$. Percentages of total carbon and nitrogen were also calculated for all samples and the C:N ratios were computed.

2.3.5 Statistical analysis

Because there were no significant difference between sexes in foraging habitat usage (i.e., percentages of time spent in Agricultural ($F_{1,19} = 0.7$; $p = 0.4$), St-Lawrence River ($F_{1,19} = 0.3$; $p = 0.6$) and Anthropogenic foraging habitat ($F_{1,19} = 2.4$; $p = 0.1$), or stable isotope ratios in plasma ($\delta^{13}\text{C}$: $F_{1,19} = 0.9$; $p = 0.3$; $\delta^{15}\text{N}$: $F_{1,19} = 1.9$; $p = 0.2$), liver ($\delta^{13}\text{C}$: $F_{1,18} = 0.08$; $p = 0.8$; $\delta^{15}\text{N}$: $F_{1,18} = 2.4$; $p = 0.1$) and blood cells ($\delta^{13}\text{C}$: $F_{1,19} = 0.4$; $p = 0.5$; $\delta^{15}\text{N}$: $F_{1,19} = 1.8$; $p = 0.2$), and C:N ratios in plasma ($F_{1,19} = 0.02$; $p = 0.9$), liver ($F_{1,18} = 3.8$; $p = 0.07$), and blood cells ($F_{1,19} = 1.4$; $p = 0.3$), males and females samples were grouped together for all statistical treatment.

Principal component analysis (PCA) was used to investigate the general structure of the relationships between variables using a correlation matrix. The variables included the % of time spent in each foraging habitat (Agricultural, St-Lawrence River, Anthropogenic), stable isotope ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) and C:N ratios. This analysis was performed separately for each tissue (plasma, blood cells and liver). Simple linear regressions were further performed to investigate the strength of the relationships between those variables.

Differences in mean $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ as well as C:N values between tissues and foraging habitats were further investigated using the analysis of variance (ANOVA), followed by the Student's t post-hoc test. Residuals of C:N ratio in blood cells did not follow the normal distribution, and thus, the Wilcoxon test adapted for non-parametric distribution was used to compare means of C:N ratios in blood cells between the three foraging habitats.

All analyses were performed using the statistical package JMP (SAS, Cary, NC, USA) and results with $p \leq 0.05$ were considered significant.

2.4 Results

2.4.1 GPS data

A total of 17 males and 4 females RBGUs were tracked during the 2010 incubation period. The mean number of days elapsed between the first laid egg and day of euthanasia was 19 ± 1 days (range: 11-29 days). The GPS unit battery duration ranged between 21.1 and 65.1 hrs (mean: 33.9 ± 2.2 hrs). The birds spent $86.7 \pm 1.70\%$ of their time on the colony. When away from the colony, $10.6 \pm 0.70\%$ of their time was devoted to flying activities. Hence, the total time spent foraging averaged 258 ± 45 min; the shortest trip lasted 16 min and the longest 876 min. Birds performed on average 2.70 ± 0.30 feeding trips during this tracking period.

During the period RBGUs were GPS-tracked (portion of incubation period), 81, 92, and 100% of the individuals visited the Anthropogenic, Agricultural, and St-Lawrence River foraging habitats, respectively. Nevertheless, when the categorization criteria were applied, it was found that 10 birds concentrated their feeding activities in Agricultural habitats, 7 in the St-Lawrence River habitat, and 4 in Anthropogenic-related habitats. Two birds that visited two feeding habitats in nearly equal proportions were thus excluded from further analyses. RBGUs visited the three foraging habitats in significant different proportions ($F_{2,66} = 7.7$; $p = 0.001$). Indeed, RBGUs visited Anthropogenic foraging habitat a smaller percentage of their time ($M = 14.4$, $SE = 5.38$) relative to the Agricultural ($M = 39.6$, $SE = 6.02$, $p = 0.003$) and St-Lawrence River foraging habitats ($M = 41.8$, $SE = 5.49$, $p = 0.0003$). However, the proportion of time the birds spent in the St-Lawrence River foraging habitat was not significantly different from Agricultural habitat ($p = 0.8$). No difference could be found between the lipid content percentages in plasma ($F_{2,17} = 0.5$; $p = 0.6$) or liver ($F_{2,18} = 0.6$; $p = 0.6$) among the three foraging habitats.

2.4.2 Partial G.I. tract content

Because identifiable items were found in only eight males, a qualitative evaluation of the data was done (see Appendix A). As a result of low sample size, no strong conclusions could be validated.

2.4.3 Stable isotopes

2.4.3.1 $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ signatures

In blood cells, $\delta^{13}\text{C}$ ranged from -22.5 to -18.5‰, while $\delta^{15}\text{N}$ was between 7.0 and 10.0‰. In plasma, $\delta^{13}\text{C}$ varied between -24.0 and -18.0‰, and between 7.0 and 11.0‰ for $\delta^{15}\text{N}$. Finally, in liver, isotopic values ranged between -24.0 and -18.0‰ for $\delta^{13}\text{C}$, and between 8.0 and 11.0‰ for $\delta^{15}\text{N}$. There were strong positive correlations between $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ for all three tissues (Fig. 2.1). Moreover, strong positive correlations were found for $\delta^{13}\text{C}$ between blood cells and plasma ($r = 0.84$; $p \leq 0.0001$), liver and plasma ($r = 0.98$; $p \leq 0.0001$) as well as blood cells and liver ($r = 0.85$; $p \leq 0.0001$). Strong correlations were also found for $\delta^{15}\text{N}$ among all tissues (Fig. 2.2).

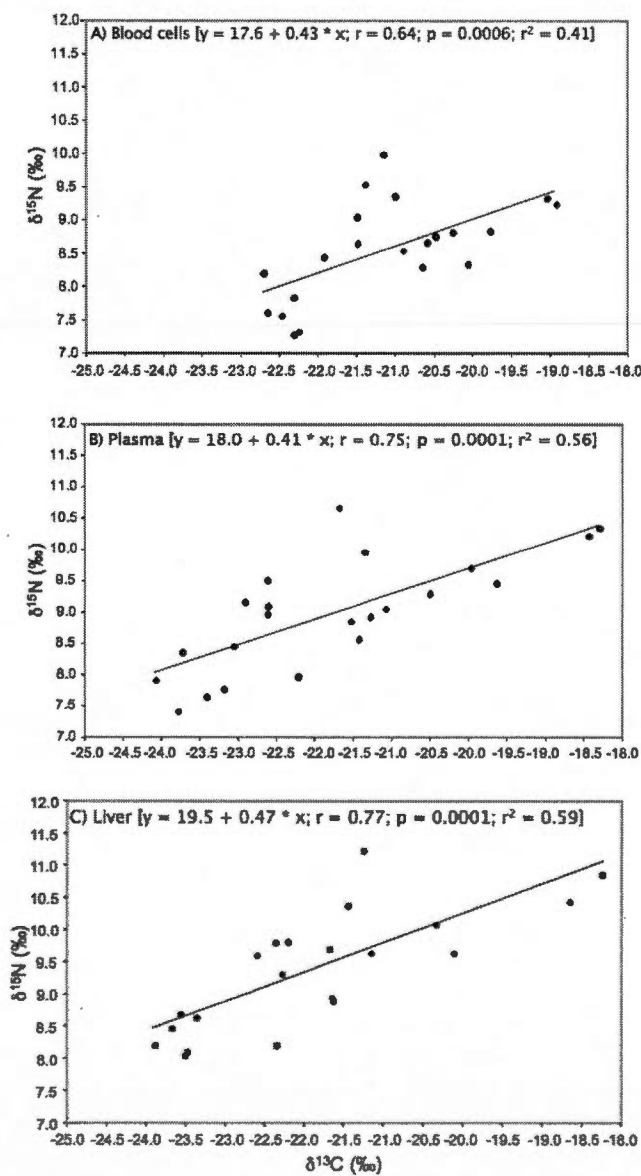


Figure 2.1 Correlations between isotopic ratios of carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) in blood cells (A), plasma (B) and liver (C) of RBGUs breeding on Deslaurier Island, greater Montréal area.

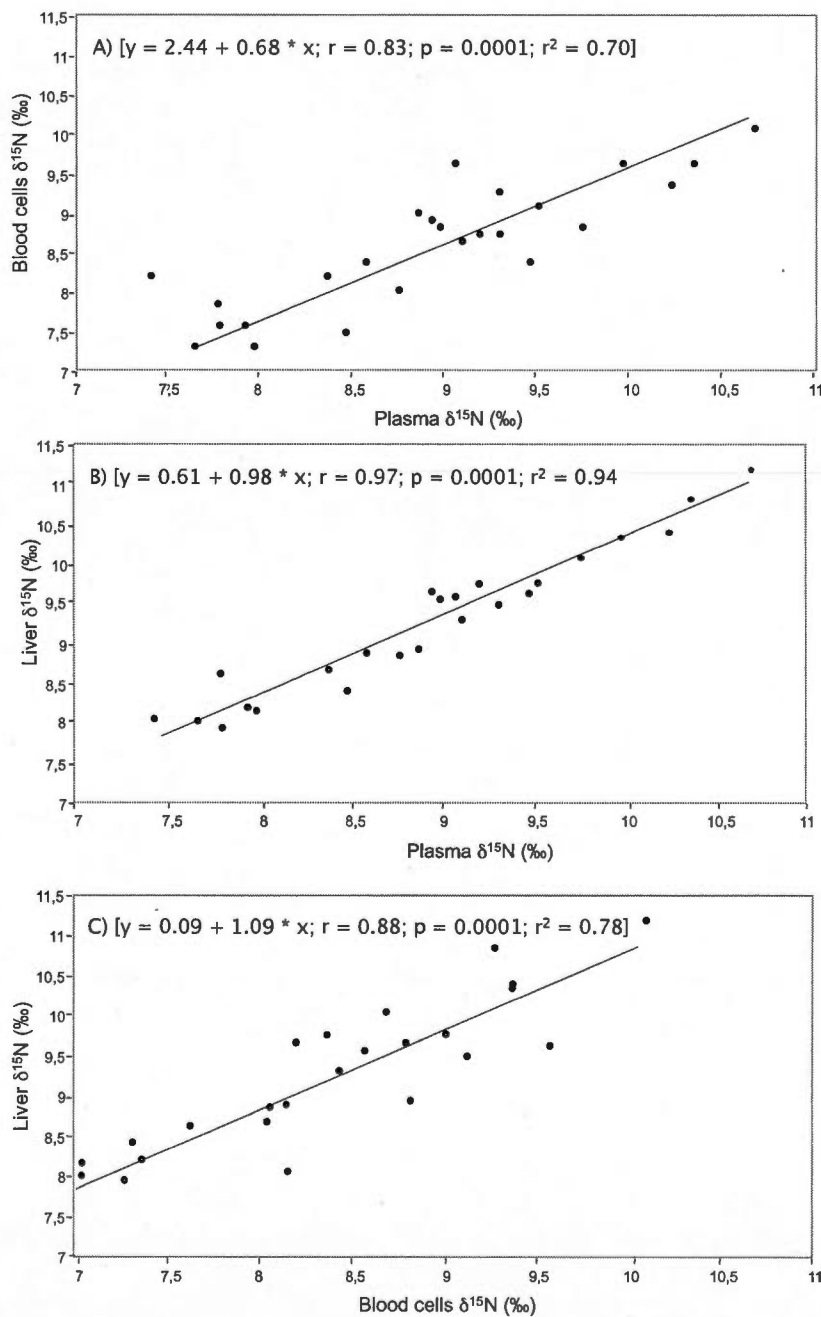


Figure 2.2 Correlations between isotopic ratios of nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) between blood cells and plasma (A), liver and plasma (B) and liver and blood cells (C) of RBGU breeding on Deslauriers Island, greater Montréal area.

Overall, tissue isotopic signatures of carbon and nitrogen generally were comparable between RBGUs that foraged predominantly in Agricultural and St-Lawrence foraging habitats. However, differences were noted for $\delta^{15}\text{N}$, but not for $\delta^{13}\text{C}$, between birds that spent more time in these two foraging habitats versus those that did so in the Anthropogenic foraging habitat (Fig. 2.3).

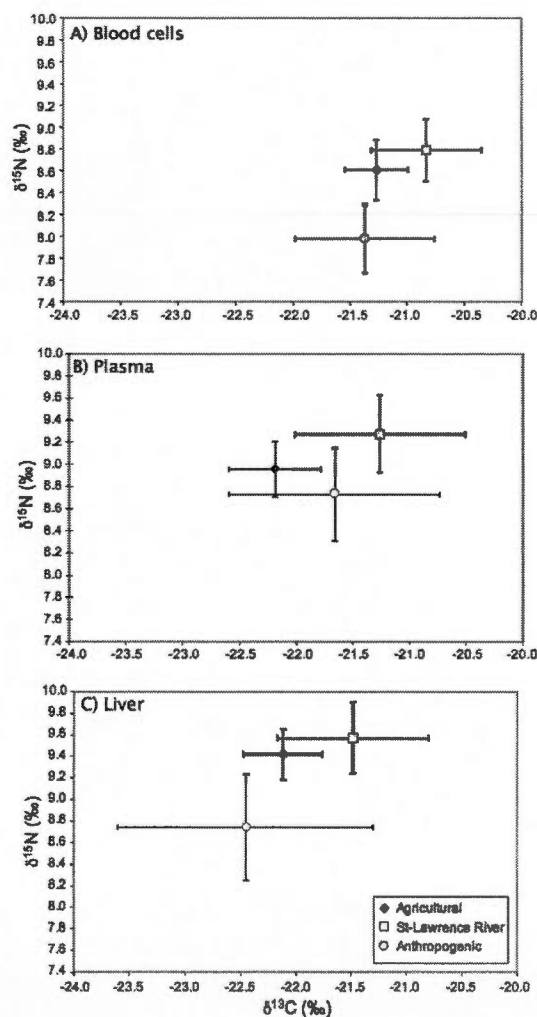


Figure 2.3 Mean $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ (± 1 SE) in blood cells (A), plasma (B) and liver (C) of RBGUs breeding on Deslauriers Island, greater Montréal area, categorized by foraging habitats (Agricultural, St-Lawrence River and Anthropogenic).

A substantially wider variation in both $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ was observed in birds categorized in the Anthropogenic feeding habitat for all three tissues, probably due to the low sample size. More specifically, there was no significant difference in $\delta^{13}\text{C}$ between the three foraging habitats for any of the tissues: plasma ($F_{2,18} = 0.9$; $p = 0.4$), blood cells ($F_{2,18} = 0.9$; $p = 0.4$) and liver ($F_{2,17} = 1.2$; $p = 0.3$). Similarly, no difference could be observed for $\delta^{15}\text{N}$ in plasma between the three foraging habitats ($F_{2,18} = 1.2$; $p = 0.3$). In contrast, $\delta^{15}\text{N}$ in blood cells of RBGUs that foraged predominantly in Anthropogenic foraging habitat was significantly lower compared to those that foraged in St-Lawrence foraging habitat ($F_{2,18} = 2.5$; $p = 0.04$). A tendency that could be observed for liver, although it was not statistically significant ($F_{2,17} = 1.9$; $p = 0.1$). In blood cells and liver, the means $\delta^{15}\text{N}$ in birds classified in the Anthropogenic foraging habitat were roughly 1 δ unit lower compared to the St-Lawrence foraging habitat.

2.4.3.2 C:N ratios

No significant association was found for C:N ratios between blood cells and plasma, liver and plasma or blood cells and liver. No significant difference was found in C:N ratios between foraging habitat categories in plasma ($F_{2,18} = 0.3$; $p = 0.7$) and blood cells ($F_{2,18} = 0.4$; $p = 0.7$) (Fig. 2.5). However, C:N ratio in liver was significantly higher in RBGUs categorized in Anthropogenic foraging habitat compared to RBGUs that foraged predominantly in Agricultural and St-Lawrence River foraging habitats ($F_{2,17} = 2.8$; $p = 0.04$).

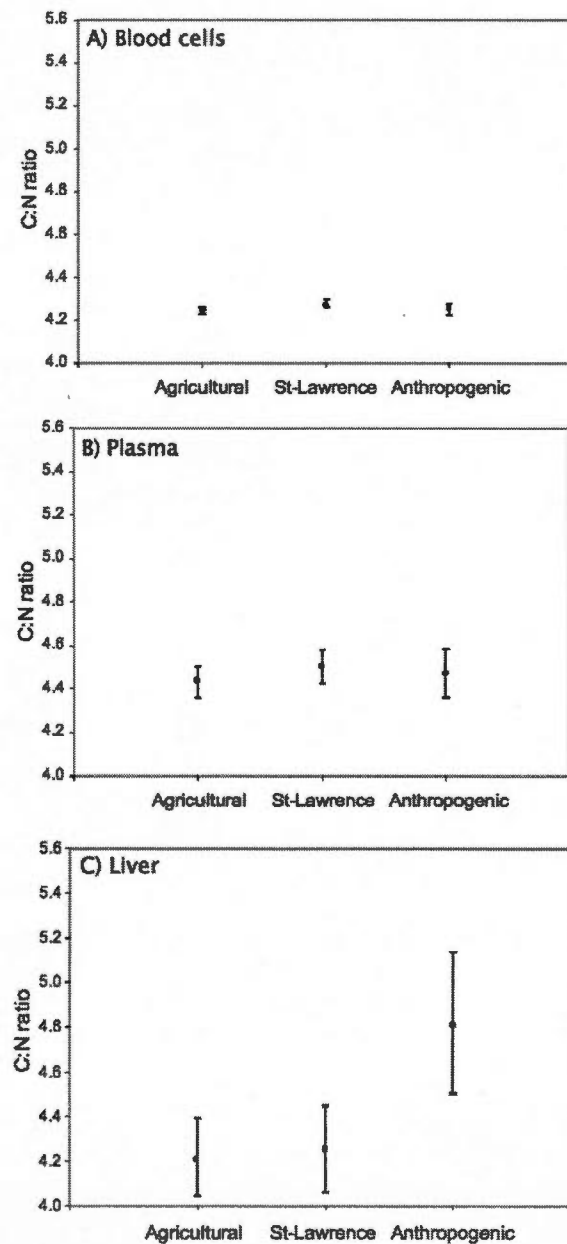


Figure 2.4 Mean C:N ratios values (± 1 SE) in blood cells (A), plasma (B) and liver (C) of RBGUs nesting on Deslauriers Island, greater Montréal area, categorized by foraging habitats (Agricultural, St-Lawrence River and Anthropogenic)

2.4.4 Association between variables

The principal component analyses (PCA) based on the percentages of time spent by gulls in the three foraging habitats and the $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ and C:N values provided similar results for the three tissues. We thus limit presentation of the results for the liver samples. The PCA yielded two principal components (PCs) with eigenvalues greater than 1 that accounted for 71.6% of the total variation (Fig. 2.6). The PCA plot of the first two PCs suggested that birds that spent a greater proportion of their time in the Anthropogenic feeding habitat tended to have higher C:N, lower $\delta^{15}\text{N}$ and higher $\delta^{13}\text{C}$ (negative scale) in liver. Moreover, birds that visited the Agricultural feeding habitat generally tended to spend less time in the St-Lawrence River feeding habitat, although the time spent in those two feeding habitats appear not to be related to variations in liver $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ and C:N.

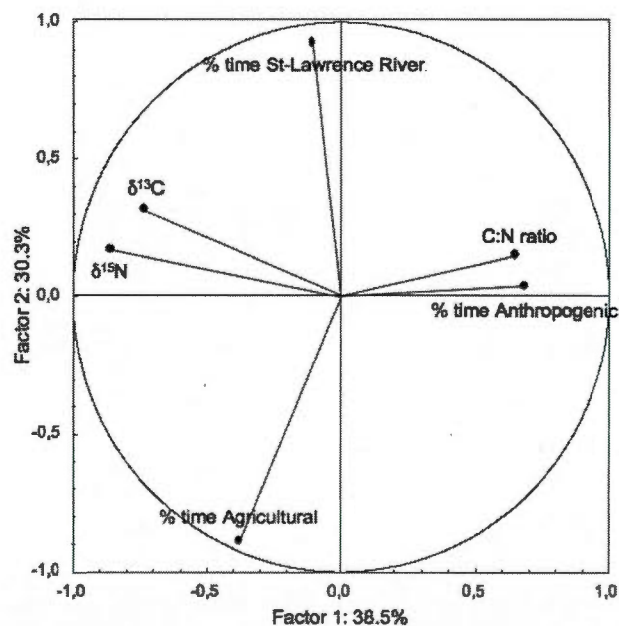


Figure 2.5 Principal component analysis (PCA) showing correlations structures between % of time spent in each foraging habitat (Agricultural, St-Lawrence River and Anthropogenic), $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ and C:N ratios in liver of RBGUs.

More specifically, there was a positive correlation between C:N in liver and percentage of time in the Anthropogenic foraging habitat ($r = 0.45$; $p = 0.04$). Furthermore, $\delta^{15}\text{N}$ in blood cells were negatively associated with percentage of time in Anthropogenic foraging habitat ($r = -0.48$; $p = 0.03$), while such tendency (non-significant) could also be found for $\delta^{15}\text{N}$ in liver ($r = -0.36$; $p = 0.1$). Also, $\delta^{15}\text{N}$ in blood cells tended to be weakly positively associated, although not statistically significant, with percentage of time in Agricultural foraging habitat ($r = 0.33$; $p = 0.15$).

2.5 Discussion

2.5.1 Foraging habitat usage and diet composition

The current study aimed at understanding the feeding ecology and habitat use patterns of RBGUs breeding in a heterogeneous landscape in the Montréal area by combining a new GPS-tracking technology and ecological tracer, that is, carbon and nitrogen stable isotope signature in three different tissues. GPS-based tracking of RBGUs revealed utilization of a diversity of feeding habitats. More specifically, RBGUs utilized anthropogenic-related habitats (city center, transshipment centres and wastewater basins) and intensive agriculture lands for foraging activities, which corroborates other RBGU studies from the same study site (Patenaude-Monette, 2012) and near Lake Erie (Belant, Ickes and Seamans, 1999). However, only a few individuals visited landfills, probably due to the effective gull deterrence programs (falconry, gunshot, etc.) in place at these sites (Thieriot, 2012). The greater abundance of gulls in intensive cultures was closely related to soil preparation that increases the availability of some food items such as corn and annelids (Cuendet, 1983; Patenaude-Monette, 2012; Schwemmer, Garthe and Mundry, 2008). Important foraging activities in anthropogenic and agricultural habitats have also been observed for other Larids breeding close to densely populated urban environments such as herring gulls (Kubetzki and Garthe, 2003; Sibly and McCleery, 1983).

As a result of very low sample size, no conclusions on partial G.I. tract content could be validated. However, supportive evidence for human-related food presence in RBGU's diet have already been reported using chick diet (boli) that consisted mainly of refuse (Brousseau, Lefebvre and Giroux, 1996), as also observed for other gulls, e.g., yellow-legged gull from southeastern coast in France (Duhem *et al.*, 2003).

2.5.2 Evidence for anthropogenic food consumption based on stable isotopes

Using individual GPS-tracking information, this study demonstrated that the use of foraging habitat may explain, at least in part, the variations in isotopic signatures of carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) in RBGUs. The broad ranges in $\delta^{13}\text{C}$ signatures among and between plasma, blood cell and liver samples revealed strong intraspecific differences in RBGUs' diet, confirming their diversified diet (Brousseau, Lefebvre and Giroux, 1996; Chudzik, Graham and Morris, 1994). According to Bearhop *et al.* (1999), consumers exhibiting $\delta^{13}\text{C}$ values ranging between -16 and -12‰ can be associated with marine-based food consumption, while freshwater/terrestrial diet consumption typically range between -26 and -20‰. The same study reported that a mixture of these diets (marine and freshwater/terrestrial) may yield $\delta^{13}\text{C}$ ranging between -20 and -16‰. The $\delta^{13}\text{C}$ signatures in three tissues of RBGUs (-24 to -18‰) indicated that diet of these birds can be characterized as mainly freshwater/terrestrial during the incubation period, which was consistent with results for other Larid species (Auman *et al.*, 2011; Hebert *et al.*, 1999; Hobson, 1987) and kit fox (*Vulpus macrotis mutica*) feeding in urbanized environments (Newsome *et al.*, 2010). Moreover, despite that no statistically significant difference in $\delta^{13}\text{C}$ signatures could be detected between the three foraging habitats, there was a tendency (depleted $\delta^{13}\text{C}$ in birds categorized in anthropogenic foraging habitat) that suggested an apparent influence of anthropogenic foods consumption. In fact, Jahren and Kraft (2008) reported $\delta^{13}\text{C}$ in beef and poultry products from popular fast-food chains in North America that ranged between -20 and -15‰. Because this type of human-derived food is found by RBGUs nesting near the densely-populated Montréal area, the consumption of these processed food items could have influenced $\delta^{13}\text{C}$ signatures in their tissues.

A more conclusive evidence of human food-based diet could be inferred from the $\delta^{15}\text{N}$ values in RBGUs that tended (liver) or were significantly lower (blood cells) in birds that foraged predominantly in the Anthropogenic habitat. This tendency was also reported in a study of kit fox that showed lower and more variable $\delta^{15}\text{N}$ in individuals utilizing urbanized areas for feeding relative to non-urbanized ones (Newsome *et al.*, 2010). $\delta^{15}\text{N}$ in human-derived refuse were found to be relatively low (2-6‰) (Weiser, 2010). Moreover, processed

foods typically have lower $\delta^{15}\text{N}$ values than natural prey items, ranging from 6.0 to 6.4‰ for beef, and from 2.2 to 2.5‰ for poultry (Jahren and Kraft, 2008).

Total carbon to nitrogen concentration ratios (C:N ratio) were also used as a complementary tool to understand the diet variation in RBGUs. The noticeably higher C:N ratios in RBGUs (liver) that visited predominantly the human-impacted habitats could be an indication of higher consumption of anthropogenic food sources, that is, food items typically containing lesser amounts of proteins. Furthermore, it has been shown that carnivores having an important nitrogen uptake were found to have lower C:N ratios compared to omnivores (Robbins, Felicetti and Sponheimer, 2005).

The highly comparable $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values in plasma, blood cells and liver and the strong correlations among these tissues further indicated that foraging behaviour monitored in RBGUs using GPS tracking during a short time window (less than 35 hrs) is potentially repeated over time throughout the breeding season (Bearhop *et al.*, 2006). In fact, it has been estimated that plasma half-lives in birds range between 0.4 to 0.7 days for $\delta^{13}\text{C}$, and between 0.5 and 1.7 days for $\delta^{15}\text{N}$ (Pearson *et al.*, 2003). Further, liver half-lives were estimated to be 6.4 days for $\delta^{13}\text{C}$ (Tieszen *et al.*, 1983) and between 10 and 20 days for $\delta^{15}\text{N}$ (Buchheister and Latour, 2010). Hence, these tissues integrated dietary information related to different periods of time in the RBGU incubation period as the stable isotope signature of a tissue reflect diet throughout the period of its synthesis (Bearhop *et al.*, 2002, 2006; Hobson and Clark, 1993). While feeding specialization of individuals has received less attention in birds than in mammals, evidences have been reported in gulls such as western gulls (Spear, 1993). However, because GPS-tracking of RBGUs encompassed 1-2 days and stable isotope tissue signatures up to three weeks, current study design did not allow confirming longer-term feeding preference within this population. Stable isotope analyses in feathers, however, could have provided additional information post-molting as feathers are metabolically inert and preserve a longer-term dietary isotopic signature (Bearhop *et al.*, 2006). Racine *et al.* (2012) who measured the ratio distribution of stable carbon and nitrogen isotopes in primary feathers of RBGU chicks during the rearing period, showed that $\delta^{13}\text{C}$ in primary feathers ranged between -22 and -17‰, and $\delta^{15}\text{N}$ signature ranged between 7 and 11‰. These data are very

similar to the isotopic signature observed in plasma and liver of present breeding RBGUs from the same colony, which may confirm an individual long-term feeding preference.

2.6 *Conclusions and recommendations*

The analyses of tissue stable isotope profiles in relation with high-resolution GPS-tracking information allowed to a better understanding of foraging habitat usage and feeding ecology of urban-breeding RBGUs in a heterogeneous landscape. To our knowledge, this study is the first to explore a link between stable isotope signatures in an omnivorous bird and habitat-use strategy using miniature bird-borne GPS units. General tendencies emerged from this small dataset supporting that RBGUs utilizing more anthropogenic-related foraging habitats integrate tissue profiles of $\delta^{15}\text{N}$ and C:N ratios that can be associated with food sources typically found in these sites (e.g., processed and/or human-derived products). This also demonstrated that combined usage of ecological tracers and bird-born GPS units may provide useful information to understand intraspecific variations in dietary habits of urbanized Larids. Nevertheless, current study design had some limitations that prevented drawing firm conclusions, including low sample size and short-time GPS-tracking information encompassing up to 2-3 feeding trips only. To remediate these study weaknesses, an ongoing project will investigate habitat-use of a larger number of breeding RBGUs during a longer time scale (approximately 2 weeks) and stable isotope signatures in tissue that have longer turnover rates (muscle and feathers).

2.7 *Acknowledgements*

Funding for this project was provided by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) through a Discovery Grant to J.V. and a Collaborative Research and Development Grant to J.-F.G., as well as the Canada Research Chair in Comparative Avian Toxicology to J.V. We would like to thank Agnieszka Adamowicz (GEOTOP-UQAM) for assistance with stable isotopes analyses. We extend our appreciation to Francis St-Pierre and Mathieu Tremblay (UQAM) for fieldwork assistance, as well as Martin Patenaude-Monette (UQAM) for his contribution to ArcGIS analysis. . E.C.B. was partly supported by a scholarship from the *Fonds d'accessibilité et réussite des études* (FARE, UQAM).

3 CHAPITRE III

CAN STABLE ISOTOPES AND GPS TRACKING BE USED TO EXPLAIN THE HIGH BDE-209
EXPOSURE OF URBAN-BREEDING RING-BILLED GULLS?

CARON-BEAUDOIN, Élyse¹; GENTES, Marie-Line¹; LETCHER, Robert J.²; GIROUX,
Jean-François³ and VERREAULT, Jonathan^{1,*}

¹ Centre de recherche en toxicologie de l'environnement (TOXEN), Département des
sciences biologiques, Université du Québec à Montréal, Montréal, QC, Canada

² Wildlife and Landscape Science Directorate, Science and Technology Branch, Environment
Canada, National Wildlife Research Centre, Carleton University, Ottawa, ON, Canada

³ Groupe de recherche en écologie comportementale et animale (GRECA), Département des
sciences biologiques, Université du Québec à Montréal, Montréal, QC, Canada

3.1 Abstract

Polybromodiphenyl ethers (PBDEs) have been reported to bioaccumulate in a range of avian species, and higher-brominated congener (e.g., BDE-209) levels are increasing in wild birds nesting near urbanized areas. However, the environmental sources of BDE-209 to free-ranging birds have been poorly documented. The present study investigated the link between diet, habitat-use strategy and tissue PBDE (including BDE-209) profiles in liver and plasma of ring-billed gulls (*Larus delawarensis*) (RBGUs), an omnivorous species breeding close to a major pollution hotspots in the St-Lawrence River basin (Montréal, Canada). Diet characterization was performed using stable isotopes of carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) in blood and liver, while habitat-use was determined using bird-borne GPS data loggers that allowed detailed tracking (5-10 m) of bird movements for a 24h-30h period. Based on GPS information, RBGUs were categorized in three major foraging habitats: Agricultural, St-Lawrence River and Anthropogenic (Montréal city, wastewater basins and landfills). RBGUs categorized in Anthropogenic foraging habitat exhibited slightly lower $\delta^{15}\text{N}$ values in liver relative to RBGUs that foraged predominantly in the St-Lawrence River habitat, which was suggested to be related with consumption of processed foods in urbanized areas. Moreover, high concentrations of ΣPBDE and BDE 209 were determined in plasma and liver of these birds. More specifically, concentration ratio of BDE-209 to BDE-47 was higher in RBGUs that foraged predominantly in Anthropogenic area compared to birds categorized in the Agricultural foraging habitat. Further, BDE-209 concentrations were negatively correlated with $\delta^{15}\text{N}$ (liver and plasma) in birds that spent more time in Agricultural habitat for foraging. These results strongly suggested the important influence of urbanized areas and the terrestrial ecosystem for foraging activities on this particular contamination pattern (i.e., high proportion of BDE-209) in Montréal-breeding RBGUs. Combination of dietary information and habitat-use strategies documented via stable isotope profiling and GPS-tracking is suggested to be a promising approach for the evaluation of PBDE profiles and sources in omnivorous birds from urban environments.

Keywords: Polybrominated diphenyl ether, BDE-209, stable isotopes, GPS tracking, feeding ecology, bird

3.2 Introduction

To fulfill fire safety regulations, polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) have been, and still are used extensively as flame retardant (FR) additives in consumer and industrial products such as paints, plastics, electronic appliances, textiles and construction materials. Chemical industry has synthesized three major commercial PBDE formulations: penta-BDE, octa-BDE and deca-BDE, corresponding to their bromine content. Because of their widely documented environmental persistence, bioaccumulation propensity and toxicity to fish and wildlife, constituents of the penta- and octa-BDE mixtures have been banned in Canada (2008), United States (2005) and the European Union (2004), and were recently added to the POPs list of the Stockholm Convention (Stockholm Convention on POPs, 2009). To date, no regulation on the production or usage of the deca-BDE mixture (composed of >97% of BDE-209), which represented 80% of the world market demand in 2001 for PBDEs (Hu *et al.*, 2010), is in place in North America, although restrictions in the usage and importation of this mixture are contemplated for 2013 in Canada (Environment Canada, 2011). In Europe, the use of deca-BDE is restricted since 2008. Toxic effects reported for PBDEs (mainly lower-brominated congeners) include, among others, neurobehavioural development disorders, thyroid hormone disruption, depressed long-term learning and memory capabilities and carcinogenicity (Betts, 2008; Costa *et al.*, 2008; He *et al.*, 2010).

A large suite and occasionally high concentrations of PBDEs have been reported in tissues and eggs of avian species from North America, including double-crested cormorant (*Phalacrocorax auritus*) and bald eagles (*Haliaeetus leucocephalus*) from British Columbia, and aquatic birds from San Francisco Bay (Chen *et al.*, 2010). Concurrently, high concentrations of PBDEs have been detected in some Larid species such as herring gulls (*Larus argentatus*) from the Laurentian Great Lakes (Gauthier *et al.*, 2008) and Norwegian Arctic glaucous gulls (*Larus hyperboreus*) (Verreault *et al.*, 2005, 2007). A number of studies also reported on the detection of BDE-209, in which highest concentrations were uncovered in birds from North America and China (Chen and Hale, 2010). Screening of BDE-209 in remote biota such as the Arctic (De Wit, Alae and Muir, 2006; Van Bavel *et al.*, 2010) also revealed presence of BDE-209; for example, in Norwegian Arctic glaucous gulls (Verreault

et al., 2005). In this study, this fully brominated congener was detected infrequently and at low concentrations, ranging from 0.03 to 0.43 ng/g ww. Regardless, in studies from temperate areas, the proximity of some sub-populations to urban environments has been associated with increased exposure to BDE-209. More specifically, in blood of Lake Superior bald eagles (*Haliaeetus leucocephalus*), reported levels of BDE-209 were 7.9 ng/g ww, while those found in individuals from highly-urbanized Californian sites were 30.9 ng/g ww (Chen and Hale, 2010). Moreover, in herring gulls from the densely populated Laurentian Great Lakes basin (Lake Michigan), levels of BDE-209 reported in 2006 were 20 ± 1.7 ng/g ww, and accounted for 2% of Σ PBDE (sum of 39 congeners) in egg pools (Gauthier *et al.*, 2008). Supportive evidence was reported in peregrine falcons (*Falco peregrinus*) from California, where human density was a significant predictor of BDE-209 concentrations in eggs of these birds (Newsome *et al.*, 2010a). More recently, Gentes *et al.* (2012) reported high concentrations of Σ PBDE in plasma (27.0 ± 4.05 ng/g ww) and liver (205 ± 32.0 ng/g ww) of a medium-size gull, the ring-billed gull (RBGU) (*Larus delawarensis*), nesting in the greater Montréal area (Québec, Canada), a known hotspot region in Canada for PBDEs and emerging flame retardants (Chen *et al.*, 2012). In the study by Gentes *et al.* (2012), unexpectedly high detection frequency and concentrations of BDE-209 (57.2 ± 12.2 ng/g ww) and other current-use halogenated flame retardants were uncovered in RBGU liver. Moreover, in liver of RBGUs, the relative contribution of BDE-209 to Σ PBDE was 25%, and exceeded that of BDE-47 and BDE-99, which typically represent the most abundant congeners detected in birds along with BDE-100, -153 and -154 (Chen *et al.*, 2012; Munoz-Arnanz, *et al.*, 2010). Gentes *et al.* (2012) suggested that the remarkable BDE-209 exposure and accumulation in these urban-breeding RBGUs could be explained by high utilization of foraging sites in anthropogenic-impacted areas. However, the environmental and dietary sources of this highly hydrophobic, little volatile and bioaccumulative congener (Shaw *et al.*, 2008; Wania and Dugani, 2003) to free-ranging birds have received little research attention.

Ecological tracers based on stable isotopes of carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) have become powerful tool to understand food web structure, and are now being used in a growing number of avian studies to understand dietary-sourced exposure and trophic transfer of

contaminants (mainly legacy organochlorines) (Jardine, Kidd and Fisk, 2006; Sormo *et al.*, 2011) such as in Great Lakes herring gull eggs (Gauthier *et al.*, 2007; Hebert and Weseloh, 2006; Hebert *et al.*, 2009a), seabird eggs from the Canadian Arctic (Braune *et al.*, 2007) and in liver of Norwegian coastal herring gulls (Sormo *et al.*, 2011). However, in these studies, interpretations of exact sources and occasionally large intra-specific profile variations of these contaminants have remained challenging using stable isotopes due to poor understanding of the bird's foraging behaviour and habitat-use strategy. In a recent study, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ determination in blood and tissues of global positioning system (GPS)-tracked RBGUs breeding in the greater Montréal area have provided evidence on the important contribution of anthropogenic-related food sources in the diet of some individuals (Caron-Beaudoin *et al.*, In prep). More specifically, fine-scale analysis of geographical movements revealed that RBGUs that spent most of their time in anthropogenic-related foraging habitats (e.g., city centre, landfills and wastewaters treatment plant basins) exhibited lower $\delta^{15}\text{N}$ and higher total carbon to nitrogen ratios (C:N) in liver and blood relative to birds that spent more time in agricultural fields and the St-Lawrence River. This characteristic stable isotope signature of urban-feeding RBGUs was suggested to be associated with predominant consumption of human-derived foods (i.e., transformed foods). Moreover, tendency in the dataset for more depleted $\delta^{13}\text{C}$ in tissues and blood of RBGUs was additional evidence that these birds consumed anthropogenic food sources (Caron-Beaudoin *et al.*, In prep), which also has been observed in other urbanized gulls, like herring gulls (Hebert *et al.*, 1999) and silver gulls (*Chroicocephalus novaehollandiae*) (Auman *et al.*, 2011).

The aim of the present study was to investigate the associations between tissue profiles of environmentally-relevant PBDEs, including current-use BDE-209, and $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ signature, and foraging habitat utilization (determined by GPS-based telemetry) in RBGUs breeding in the greater Montréal area. We hypothesized that higher utilization of foraging sites in anthropogenic environments contributes to explain the remarkably high tissue levels of BDE-209 and large intra-specific variations in ΣPBDE concentrations recently reported in this omnivorous species (Gentes *et al.*, 2012). Therefore, this study used an approach based on combination of stable isotope profiling and GPS-based telemetry to understand contaminant profiles and sources in birds.

3.3 *Materials and Methods*

3.3.1 Sample Collection

Fieldwork was conducted in April and May 2010 on Deslauriers Island, located in the St-Lawrence River, 3.2 km downstream from Montréal (QC, Canada). This colony is one of the largest in the province of Québec and hosts 50,000 breeding pairs of RBGUs annually (IBA Canada, 2001). Surroundings of Deslauriers Island offer a diversity of foraging habitats for RBGUs such as rivers (including St-Lawrence River), lakes, intensive agricultural land, city of Montréal and landfills. Details on study site can be found in Gentes *et al.* (2012).

Randomly-selected nests were identified within the entire colony at the beginning of the incubation period. After at least three days following clutch completion (i.e., 3 eggs laid), male or female RBGUs ($n = 23$) were live-captured using a nest trap triggered from a distance by a radiotransmitter (Bustnes *et al.*, 2001). A miniature GPS data logger (model GiPSy2, TechnoSmArt, Guidonia, Rome, Italy) was mounted on bird tail feathers (i.e., three rectrices) using waterproof TESA tape (model no. 4651, Charlotte, NC, USA) to track their geographical movements during a short-time period in the incubation. Various morphometric measurements (head, culmen, bill, tarsus and wing length) and body mass were recorded. Birds were then released in the colony and recaptured after 2-3 days; at this time the GPS data loggers were retrieved. A 5-6 mL blood sample was then collected from the brachial vein using heparinized syringe, and birds were euthanized by cervical dislocation. Partial G.I. tract and liver were removed and kept on ice in the field along with blood samples. In the laboratory, blood was centrifuged (7 min; 2500 x g), and resulting plasma as well as partial G.I. tracts and liver samples were stored in a -20°C freezer until further analyses (i.e., stable isotope and PBDE determination). Plasma and liver were used as turnover rate in plasma provides short-term nutriment and contaminant uptake (1-2 days), while liver turnover rate for these constituents is about 10-20 days, thus providing different time scales. Details on sample collection and processing can be found in Caron-Beaudoin *et al.* (In prep). Methods used for bird capture and handling were approved by the Institutional Committee on Animal Care (CIPA) of the Université du Québec à Montréal, and comply with guidelines of the

Canadian Council on Animal Care (CCAC).

3.3.2 GPS data analysis

Comprehensive description of GPS data analysis for the present RBGUs can be found in a companion investigation (Caron-Beaudoin *et al.*, In prep). Briefly, data retrieved from the bird-borne GPS units were: geographical positions every four minutes (5-10 m precision), speed and altitude. Firstly, observation of the visited areas by each GPS-tracked RBGU was preliminary done with Google Earth map. Secondly, the software ArcGIS (ESRI, Redlands, CA, USA) was used with agricultural and topographic data to generate a detailed map of the Montréal region, showing the land types used by RBGUs from Deslauriers Island. This map was then used with to associate each GPS position to land types. From these data, the proportion of time spent in each habitat type was calculated for all individuals. GPS positions within the breeding colony were removed because no foraging activity of RBGUs has been observed to take place within this particular zone (Patenaude-Monette, 2012; Racine *et al.*, 2012.). Similarly, GPS positions of birds in flight (corresponding to speed >4 km/h) also were removed from the final dataset as RBGUs do not forage while flying (Shamoun-Baranes *et al.*, 2011). It was assumed that the non-dietary-sourced exposure to PBDEs (i.e., via gas but mainly particle-phase atmospheric exposure) during flight and within the colony would be similar among all RBGUs. Based on findings reported by Caron-Beaudoin *et al.* (In prep) in which present RBGUs were utilized, birds were categorized into three main foraging habitat utilization (generated by grouping similar land types): Agricultural, St-Lawrence River and Anthropogenic (including urban core of Montréal and suburban city centers, wastewater management sites and landfills) according to two criteria applied on the proportion of time spent in each of these foraging habitats. First, the bird had to spend more than 50% of its non-flying time in the most visited foraging habitat. Second, the same bird had to spend less than 35% of its non-flying time in the second most visited foraging habitat. Application of these criteria resulted in removal of two RBGUs from the final dataset.

3.3.3 Stable isotopes analysis

Details on stable isotope analysis in present RBGU liver and plasma samples can be found in Caron-Beaudoin *et al.* (In prep). Analyses of ^{13}C and ^{15}N ratios were conducted at the Centre de recherche en géochimie et géodynamique (GEOTOP) of the Université du Québec à Montréal (Montréal, Canada). Briefly, plasma samples were dried at room temperature and liver samples were freeze-dried, and homogenized. Liver and plasma samples were not lipid-extracted because extractable lipid contents in these samples were found to be low ($3.58 \pm 0.2\%$ and $0.71 \pm 0.03\%$ for liver and plasma, respectively) (Table 1). Moreover, an undesirable effect of sample lipid extraction is that it could have contributed to artificially enrich ^{15}N ratios (Hoffman and Sutton, 2010). Water-free plasma and liver sample aliquots were then loaded into tin cups, and weighed (0.001 mg precision). Measurement of stable isotope ratios was achieved using a continuous stable isotope flow mass spectrometer (Micromass IsoprimeTM, Cheadle, UK) coupled to an elementary analyzer (Carlo Erba NC1500TM, Milan, Italy). Results were expressed in delta annotation (δ) relative to an international standard (R_{standard} = Vienna PeeDee Belemnite for $\delta^{13}\text{C}$ and atmospheric air for $\delta^{15}\text{N}$) in parts per thousand (‰) according to the equation: $\delta X = [(R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}}) - 1] \times 1000$, where X expressed either ^{13}C or ^{15}N , and R indicated the ratio of $^{13}\text{C}:^{12}\text{C}$ or $^{15}\text{N}:^{14}\text{N}$. Total carbon and nitrogen contents were obtained for all samples, and used to calculate C:N ratios.

3.3.4 Chemical analysis

Detailed analytical procedure (i.e., sample preparation, extraction, partitioning and clean-up as well as analyte identification and quantification) for the determination of 47 PBDE congeners in liver and plasma samples of present RBGUs can be found in a companion investigation (Gentes *et al.*, 2012.). Samples were analyzed at the National Wildlife Research Center (Environment Canada, Ottawa, Canada). Briefly, sample aliquots were first homogenized in diatomaceous earth (DE) (J.T. Baker, NJ, USA) and spiked with internal standards (BDE-30, BDE-156 and ^{13}C -BDE-209). Extraction was achieved using Accelerated Solvent Extraction (Dionex ASE 200, Sunnyvale, CA, USA). Extracted samples were then cleaned-up by gel-permeation chromatography (GPC) (O.I. Analytical, College Station, TX,

USA), followed by solid-phase extraction (SPE) silica gel (SiOH) cartridges (Bakerbond, SPE, 6 mL/500 mg, VWR, Mississauga, ON, Canada). Identification and quantification of target PBDE congeners was performed using a gas chromatograph (GC) coupled to a single quadrupole mass spectrometer (MS) (Agilent Technologies 5890, Palo Alto, CA) operated in electron capture negative ionization mode (GC/MS-ECNI). Method limits of detection (MLOD) and quantification (MLOQ), as well as QA/QC results for these sample analyses can be found in Gentes *et al.* (2012).

3.3.5 Statistical analysis

Only PBDE congeners that were detected in ≥ 65 % of the plasma or liver samples were included in statistical analyses. For those congeners (Table 1), samples with concentration of a PBDE congener below the MLOD were attributed a random value between zero and the MLOD, while samples with concentration of a PBDE congener below the MLOQ were given a random value between the MLOD and MLOQ (Gentes *et al.*, 2012). All PBDE concentrations presented in this paper are in ng/g wet weight (ww) as percentages of extractable lipids did not correlate with PBDE concentrations (Σ PBDEs, BDE-47 and BDE-209) in neither plasma ($r = 0.08$; 0.2 ; 0.09 ; $p = 0.09$; 0.5 ; 0.1) nor liver ($r = 0.03$; 0.1 ; 0.07 ; $p = 0.9$; 0.6 ; 0.8). Body condition of an individual was defined as the body size index extracted using principal component (PC) analysis from three morphological measurements (i.e., head, tarsus and wing length). The body size index was generated separately for males and females as the RBGU is sexually dimorphic. Because PC1 and PC2 explained 52.3% and 25.1% of the variation in body size for male and females, respectively, only PC1 was used further. This PC1 was then regressed against body mass, and residuals were used as a body condition index.

Data residuals were tested for normality using the Shapiro-Wilk test, while variance homoscedasticity (for analysis of variance (ANOVA); see below) was tested using Brown-Forsythe. Differences in PBDE congener concentrations and concentration ratios (see below) in plasma and liver between the three foraging habitats (Agricultural, St-Lawrence and Anthropogenic) were tested by ANOVA on log-normalized data, followed by a Student's post-hoc test. Simple regressions were further performed to investigate associations between

$\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ and PBDE concentrations and concentration ratios. Ratio of BDE-209 to BDE-47 concentrations in liver and plasma samples was used as a general index of historical versus more recent PBDE contamination in RBGUs. In fact, deca-BDE mixture, in which BDE-209 represents the principal congener (>97%), is the only unrestricted PBDE mixture in North America. The environmental concentrations of BDE-209 have been reported to increase dramatically in recent years, including in herring gull eggs, in which the doubling times of this fully-brominated BDE congener ranged between 2.1 and 3.1 years (Gauthier *et al.*, 2008). In contrast, the ban of BDE-47 (major component in the penta-BDE mixture) in North America in early 2000 has resulted in leveling off, and occasionally decreases of environmental levels of this congener post-2000 (Gauthier *et al.*, 2008).

Because there were no statistically significant sex-related difference in foraging habitat utilization (i.e., percentage of time passed in Agricultural, St-Lawrence River and Anthropogenic habitats), stable isotope and C:N ratios, PBDE concentrations and body condition index, males and females were merged into one group. Moreover, no relationship was found between body condition index, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, C:N ratios and PBDE concentrations, and thus body condition index was excluded from further analyses. All analyses were performed using the statistical package JMP (SAS, Cary, NC, USA). Results were considered significant when $p \leq 0.05$, and tendencies were reported when $0.05 > p \geq 0.1$.

3.4 Results

3.4.1 GPS tracking

GPS-tracked RBGUs spent $86.7 \pm 1.7\%$ of their time within the colony and the 300m buffer zone around it. When outside this zone, $10.6 \pm 0.7\%$ of their time was devoted to flying activities. Hence, the time spent for foraging activities was estimated to be 258 ± 45 min; the shortest foraging trip was 16 min and the longest 876 min (mean number of feeding trips: 2.7 ± 0.3). All RBGUs visited the Agricultural foraging habitat, while 81% and 92% of the individuals visited the Anthropogenic and St-Lawrence River foraging habitats, respectively. Nevertheless, when the two criteria for feeding habitat categorization were applied on the percentages of time spent in each of these habitats (section 2.2), birds could be associated to one of these as follows: Agricultural ($n=10$), St-Lawrence River ($n=7$) and Anthropogenic foraging habitats ($n=4$). RBGUs visited the Agricultural foraging habitat a higher percentage of their time relative to the Anthropogenic ($p = 0.0003$) and St-Lawrence River foraging habitats ($p = 0.003$). However, the proportion of time spent in the Agricultural foraging habitat was not significantly different from the St-Lawrence River habitat ($p = 0.55$). Details on GPS tracking information of present RBGUs can be found in a companion investigation (Caron-Beaudoin *et al.*, In prep).

3.4.2 Stable isotopes signature

In plasma, $\delta^{13}\text{C}$ varied between -24‰ and -18‰ , and between 7‰ and 11‰ for $\delta^{15}\text{N}$. In liver, isotopic values ranged from -24‰ to -18‰ for $\delta^{13}\text{C}$, while $\delta^{15}\text{N}$ varied between 8‰ and 11‰ . Strong positive correlation was found for $\delta^{13}\text{C}$ between plasma and liver samples ($r = 0.96$; $p \leq 0.0001$), which was consistent with similar regression for $\delta^{15}\text{N}$ between plasma and liver ($r = 0.94$; $p = 0.0001$). Moreover, $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ strongly correlated in both plasma and liver of RBGUs ($r = 0.57$ and 0.61 for plasma and liver, respectively; both $p = 0.0001$). RBGUs that were categorized in Agricultural and St-Lawrence River foraging habitats tended to show comparable $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ signatures and C:N ratios. However, RBGUs that foraged predominantly in Anthropogenic habitat tended to have lower ($p = 0.07$) $\delta^{15}\text{N}$ in liver relative to birds that were categorized in St-Lawrence River foraging habitat (Fig. 3.1).

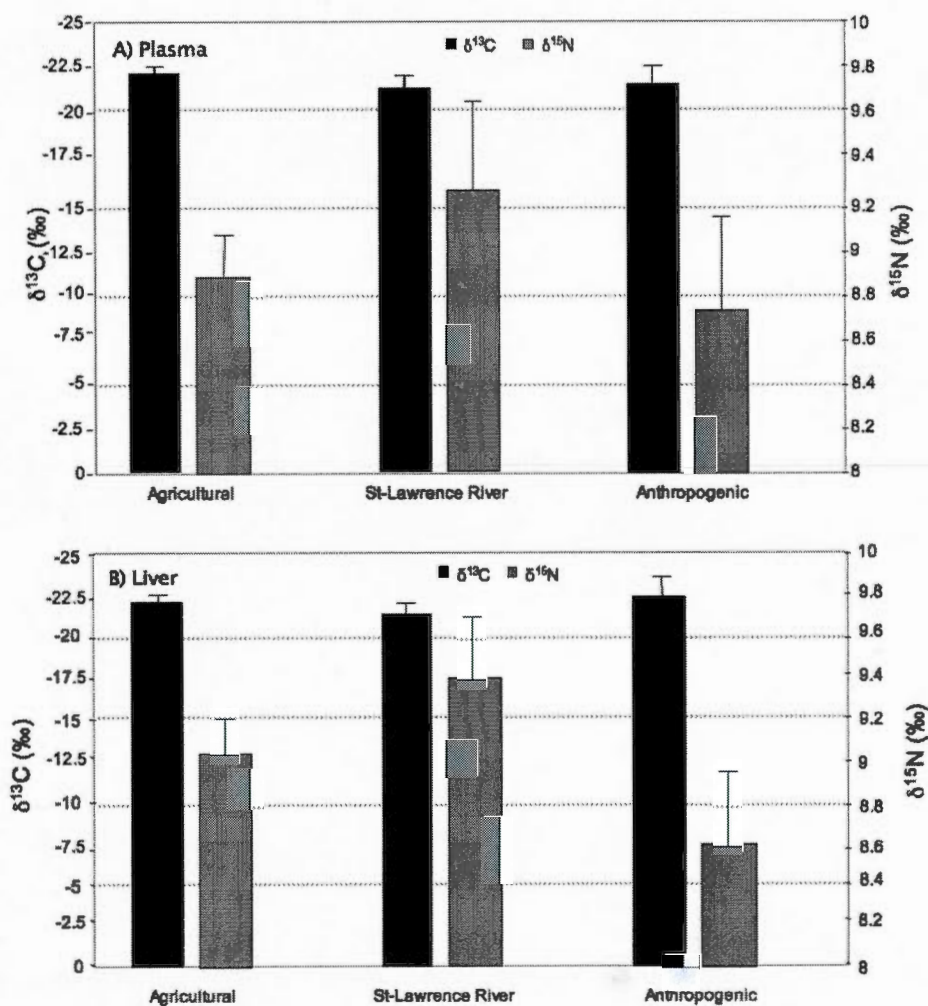


Figure 3.1 Mean $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ (± 1 S.E.) in plasma (A) and liver (B) of RBGUs categorized by foraging habitats (Agricultural, St-Lawrence River and Anthropogenic).

No difference in $\delta^{13}\text{C}$ was obtained between the three foraging habitats in either liver or plasma samples. Percentages of extractable lipids in plasma and liver samples were similar between the three foraging habitats ($p = 0.6$ (plasma); 0.5 (liver)). Comprehensive description of stable isotope results in present RBGU liver and plasma can be found in (Caron-Beaudoin *et al.*, In prep).

3.4.3 PBDE profiles in liver and plasma

Comprehensive description of concentrations and congener patterns of PBDEs, as well as a suite of non-PBDE emerging FRs, determined in present RBGUs can be found in a companion investigation (Gentes *et al.*, 2012). Briefly, 18 and 10 PBDE congeners were detected in at least 65% of RBGU liver and plasma samples, respectively (Table 3.1).

Table 3.1: Mean (\pm S.E.) lipid content and concentrations (ng/g ww) of selected PBDE congeners and their sums determined in plasma and liver of breeding RBGUs (n=21) categorized by main foraging habitats (Agricultural, St-Lawrence and Anthropogenic) in the greater Montréal.

Foraging habitat	Agricultural		St-Lawrence River		Anthropogenic	
Tissue	Plasma	Liver	Plasma	Liver	Plasma	Liver
% lipids	0.74 \pm 0.04	3.23 \pm 0.47	0.68 \pm 0.05	3.51 \pm 0.36	0.71 \pm 0.07	3.23 \pm 0.47
Σ PBDEs (ng/g ww)	30.0 \pm 7.59	235 \pm 55.6	19.7 \pm 9.79	150 \pm 66.5	25.9 \pm 12.0	199 \pm 87.9
BDE-209 (ng/g ww)	5.19 \pm 1.87	48.2 \pm 15.4	6.31 \pm 2.41	43.6 \pm 18.5	8.45 \pm 2.95	62.9 \pm 24.3
BDE-47 (ng/g ww)	8.55 \pm 1.93	41.9 \pm 9.43	3.78 \pm 2.49	18.8 \pm 11.3	5.09 \pm 3.05	23.6 \pm 14.9

Σ_{10} PBDE (plasma): Sum of following congeners : BDE-47, BDE-100, BDE-99, BDE-154/BB153, BDE-153, BDE-201, BDE-197, BDE-208, BDE-207, BDE-209

Σ_{18} PBDE (liver): Sum of following congeners in liver : BDE-47, BDE-85, BDE-99, BDE-100, BDE-138, BDE-153, BDE-154/BB153, BDE-170, BDE-179, BDE-183, BDE-196, BDE-197, BDE-201, BDE-202, BDE-203, BDE-207, BDE-208 and BDE-209.

BDE-47 concentrations were not significantly different between the three foraging habitats ($F_{2,18} = 1.9$; $p = 0.2$), but tended to be higher ($p = 0.09$) in liver of RBGUs associated with the Agricultural foraging habitat relative to those that were categorized in St-Lawrence River. Moreover, BDE-209 concentrations in liver were similar ($F_{2,18} = 0.2$; $p = 0.8$) between the three foraging habitats, which also was consistent with those of Σ_{18} PBDEs in the same tissue ($F_{2,18} = 0.4$; $p = 0.7$). In plasma, levels of BDE-47 ($F_{2,18} = 1.4$; $p = 0.3$), BDE-209 ($F_{2,18} = 0.4$; $p = 0.6$) and Σ_{10} PBDEs ($F_{2,18} = 0.2$, $p = 0.9$) were not different between the three foraging habitats. In contrast, PBDE congener pattern, that is, the percent contributions of BDE-209, but not BDE-47, to Σ PBDE were somewhat different between the three foraging habitats.

More specifically, the contribution of BDE-209 to \sum_{10} PBDEs was higher in plasma of RBGUs categorized in St-Lawrence (33%) foraging habitat ($p = 0.003$) and Anthropogenic foraging habitat (29%) ($p = 0.03$), relative to those in plasma of RBGUs that foraged predominantly in the Agricultural habitat (17%). No significant difference was found in BDE-209 percentage contributions to \sum_{18} PBDE in liver between foraging habitats. In light of these findings, BDE-209 to BDE-47 concentration ratios were compared between foraging habitats, and revealed more distinctive differences in congener accumulation patterns for these PBDEs. Concentration ratio of BDE-209 to BDE-47 in liver of RBGUs categorized in Anthropogenic foraging habitat was significantly higher relative to individuals categorized in Agricultural foraging habitat ($F_{2,18} = 2.4$; $p = 0.04$) (Fig. 3.2).

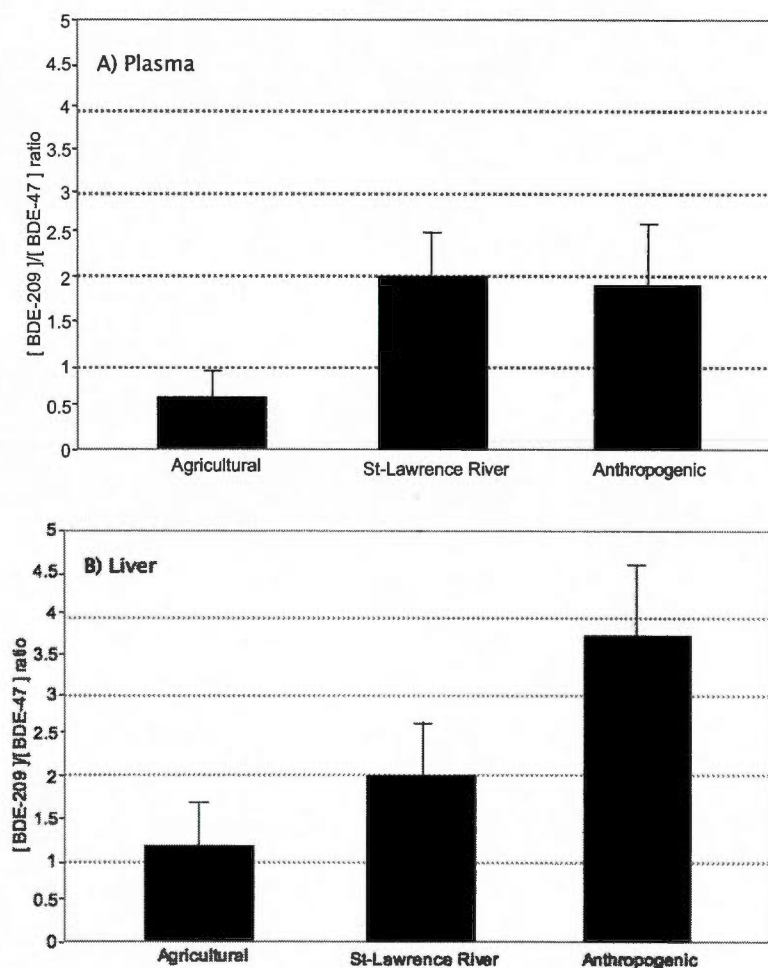


Figure 3.2 Mean BDE-209 to BDE-47 concentration ratios in plasma (A) and liver (B) of RBGUs categorized by foraging habitats (Agricultural, St-Lawrence River and Anthropogenic).

The same ratio in liver of birds categorized in the St-Lawrence River foraging habitat was intermediate, although not significantly different from the two other foraging habitats. Slightly different results were achieved in plasma, that is, concentration ratio of BDE-209 to BDE-47 in RBGUs categorized in St-Lawrence River foraging habitat was significantly higher relative to RBGUs that foraged predominantly in Agricultural habitat ($F_{2,18} = 2.9$; $p = 0.05$). Moreover, ratio of BDE-209 to BDE-47 in plasma of RBGUs categorized in

Anthropogenic foraging habitat tended to be higher, although not significantly, relative to RBGUs categorized in Agricultural foraging habitat ($p = 0.09$).

3.4.4 Associations with stable isotopes

No significant relationship was found when individual PBDE congener concentrations or percentage contributions, or concentration ratios of BDE-209 to BDE-47 were regressed against $\delta^{13}\text{C}$ or $\delta^{15}\text{N}$ in combined RBGUs. However, foraging habitat-specific regressions between concentrations of PBDEs (ΣPBDE , BDE-209 and -47) and $\delta^{15}\text{N}$, although not $\delta^{13}\text{C}$, yielded some noteworthy associations for birds categorized in Agricultural and St-Lawrence River foraging habitats, whereas no regression could be performed using birds from Anthropogenic foraging habitat due to low sample size ($n=4$). More specifically, negative correlation was found between $\Sigma_{10}\text{PBDEs}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in plasma of RBGUs categorized in Agricultural foraging habitat ($r = -0.66$, $p = 0.04$). Consistently, in liver of RBGUs categorized in Agricultural foraging habitat, $\Sigma_{18}\text{PBDEs}$ tended to negatively correlate with $\delta^{15}\text{N}$ ($r = -0.56$; $p = 0.09$). In both plasma and liver, concentrations of BDE-209 in RBGUs that foraged predominantly in Agricultural habitat were significantly or nearly significantly negatively associated with $\delta^{15}\text{N}$ (plasma: $r = -0.65$, $p = 0.05$; liver: $r = -0.61$, $p = 0.06$) (Fig. 3.3).

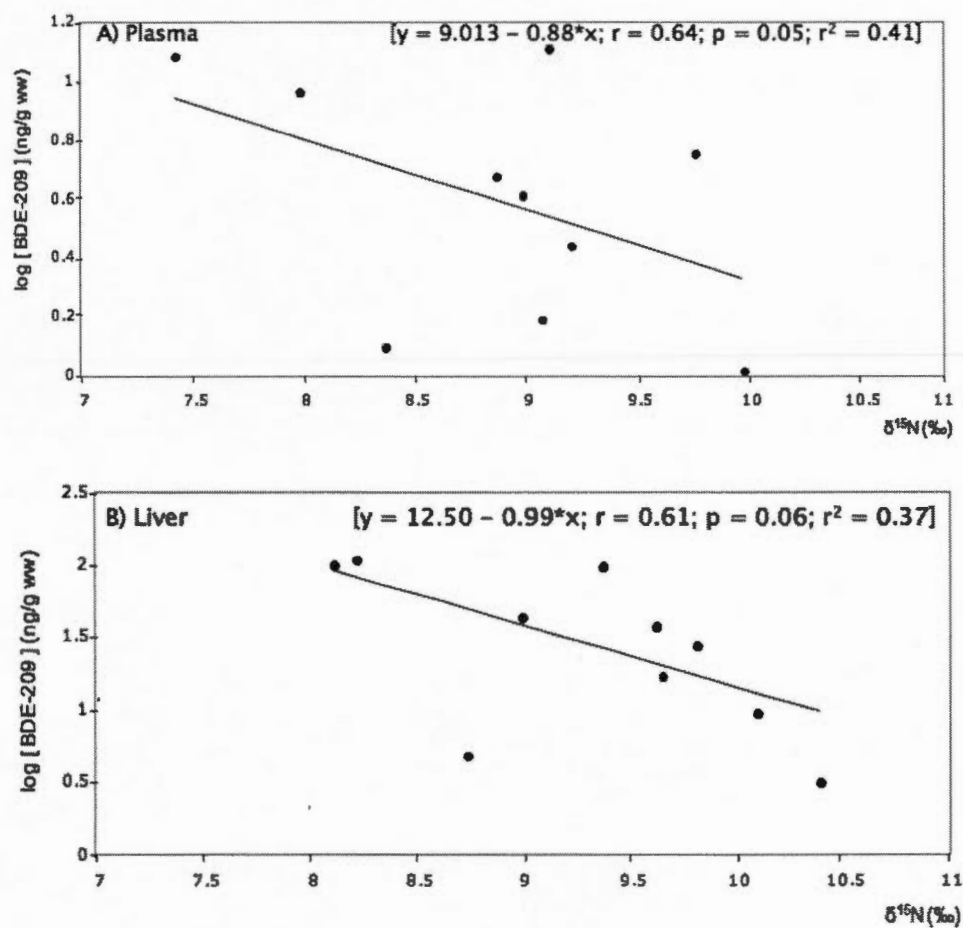


Figure 3.3 Correlations between concentrations of BDE-209 (log-transformed ng/g ww) and $\delta^{15}\text{N}$ in plasma (A) and liver (B) of RBGUs categorized in the Agricultural foraging habitat.

Inversely, although in plasma only, positive correlations were found between BDE-47 levels and $\delta^{15}\text{N}$ in RBGUs that foraged mostly in St-Lawrence River ($r = 0.70$, $p = 0.05$) and Agricultural foraging habitats ($r = 0.49$, $p = 0.02$).

3.5 Discussion

3.5.1 Foraging habitat usage and stable isotope signature

Recent investigations on space-use strategy and foraging behaviour of GPS-tracked RBGUs breeding on Deslauriers Island have demonstrated the highly diversified foraging behaviour of this urban-nesting bird species, within this single colony (Caron-Beaudoin *et al.*, In prep.; Patenaude-Monette, 2012). Moreover, in Caron-Beaudoin *et al.* (In prep.), large intraspecific variations in RBGU stable isotope profiles (plasma and liver) were denoted, and were partially associated with foraging site preferences (anthropogenic-related habitats, intensive agricultural lands or St-Lawrence River). Moreover, generally depleted $\delta^{13}\text{C}$ in plasma, blood cells and liver of RBGUs was characteristic of a predominant freshwater/terrestrial-based diet. Furthermore, RBGUs that benefited more from anthropogenic-related sites (urban, landfills and wastewater basins) for feeding were found to exhibit slightly lower $\delta^{15}\text{N}$ in blood cells and liver, thus suggesting a more frequent consumption of readily accessible processed food items in these sites (Caron-Beaudoin *et al.*, In prep.). In fact, it has been suggested that the more frequent consumption of commercial meat products may lead to lower and less variable $\delta^{15}\text{N}$ in consumer's tissues (Jahren and Kraft, 2008). For example, these authors reported that transformed meat products exhibited $\delta^{15}\text{N}$ varying between 6‰ and 6.4‰, which was associated with more depleted $\delta^{13}\text{C}$, ranging between -15‰ and -20‰.

Stable isotope profiles in tissues of Montréal-breeding RBGUs were consistent with other mammalian and avian species foraging predominantly in urbanized environments. A study by Newsome *et al.* (2010b) showed that kit foxes (*Vulpes macrotis mutica*) living in a highly urbanized area in California exploited anthropogenic food items, and exhibited lower hair $\delta^{15}\text{N}$ in comparison with nonurban individuals. In this study, hair of kit foxes foraging in human-impacted areas were characterized by slightly lower $\delta^{15}\text{N}$ (7‰-9‰) relative to those that fed in nonurban areas (9‰-14‰). The $\delta^{15}\text{N}$ signature in hair of these urban-feeding kit foxes was fairly comparable to that found in plasma (8‰-9‰) and liver (8‰-10‰) of present RBGUs breeding close to Montréal that spent more time in anthropogenic-related foraging habitats (Caron-Beaudoin *et al.*, In prep.). Furthermore, a study of Tasmanian silver gulls showed that birds breeding in an urban colony tended to feed upon a more

terrestrial/freshwater-origin food web compared to individuals from a non-urbanized colony (Auman *et al.*, 2011). Hebert *et al.* (1999) also reported in herring gulls from the Laurentian Great Lakes a temporal decline in $\delta^{15}\text{N}$ in eggs that was associated with increase in proportions of terrestrial food items in the diet of these birds.

Caron-Beaudoin *et al.* (In prep.) also denoted in present RBGUs strong positive correlations for both $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ between plasma and liver samples. Plasma half-lives for $\delta^{13}\text{C}$ in birds typically range between 0.4 to 0.7 days, and between 0.5 and 1.7 days for $\delta^{15}\text{N}$ (Pearson *et al.*, 2003), while liver half-lives for these stable isotopes were estimated to be 6.4 days for $\delta^{13}\text{C}$ (Tieszen *et al.*, 1983) and 10-20 days for $\delta^{15}\text{N}$ (Buchheister and Latour, 2010). Based on these different isotope- and tissue-specific turnover rates, and hence nutrient assimilation, this may indicate that RBGUs from this particular location exhibit dietary preference through, at least, the incubation period. However, current study design did not allow confirming long-term feeding preference (i.e., foraging specialization) in breeding RBGUs as selected tissues for stable isotope determination overall reflected a short-term nutrient (and contaminant) assimilation on a year basis. Nevertheless, Racine *et al.* (2012) who determined $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ in feathers of RBGU chicks from this same colony at three time-points inferred from three feather sections in the rearing period reported comparable isotopic signature as in plasma and liver of present adult RBGUs, which is further evidence of a maintained feeding preference during this period of their life-cycle.

3.5.2 Anthropogenic habitats as potential sources of BDE-209

As recently reported by Gentes *et al.* (2012), the high detection frequency and concentrations of BDE-209 in present RBGUs breeding on Deslauriers Island were unique, and highly contrasted with reports of other Larid species from North America. Typical PBDE pattern in fish-eating Larids is characterized by the predominant abundance of BDE-47 and BDE-99, and relatively low levels of BDE-209. For instance, Great Lakes herring gull eggs were shown to contain BDE-209 concentrations ranging between 4.5 and 20 ng/g ww (Gauthier *et al.*, 2009). However, in some Great Lakes herring gull's colonies, BDE-209 concentrations are increasing in eggs: in 2008, BDE-209 concentrations were 28 ng/g ww and 35 ng/g ww in Toronto Harbour and Niagara River colonies, respectively (Chen *et al.*, 2012). In RBGU

livers, Gentes *et al.*, (2012) determined BDE-209 concentrations averaging of 57.2 ng/g ww, which was approximately 3- to 12-times higher relative to those reported in Gauthier *et al.* (2009), and notably higher comparatively to BDE-209 concentrations in peregrine falcons' eggs from a highly urbanized site in California (Chen and Hale, 2010). This distinctive BDE-209 contamination in plasma and tissues of RBGUs breeding on Deslauriers Island (Gentes *et al.*, 2012) strongly support that high utilization of urbanized areas is related to enhanced and continued exposure of the as yet unrestricted deca-BDE mixture. This was further corroborated with more elevated BDE-209 to BDE-47 concentration ratios in liver of RBGUs that foraged predominantly in anthropogenic-related habitats relative to those for which foraging activities were more concentrated in intensive agricultural fields. Supportive evidence of urban areas as important reservoirs of BDE-209 were reported by Newsome *et al.* (2010a) and Potter *et al.* (2009) in peregrine falcons (California and Chesapeake Bay, USA) in which egg BDE-209 levels were positively correlated with human density. In the study by Newsome *et al.* (2010a), egg levels of higher-brominated PBDEs (hepta- through nona-BDEs) also were significantly greater in peregrine falcons inhabiting urban areas relative to their non-urban counterparts. This was consistent with the study by Chen *et al.* (2012) that reported positive correlations between human population density (number of persons per km²) and levels of BDE-209 as well as suite of higher-brominated PBDEs in herring gull eggs. A large suite of higher-brominated congeners, and potential debromination products of BDE-209 have been determined in RBGUs breeding on Deslauriers Island, including hepta-BDEs (BDE-183, BDE-170, BDE-179) and octa-BDEs (BDE-197, BDE-201, BDE-203, BDE-202) (Chabot-Giguère, Letcher and Verreault, In prep.). In this study, no *in vivo* biotransformation of BDE-209 was observed to take place using RBGU hepatic microsomes, thus indicating that sources of these sequential BDE-209 debromination products in this species were largely from environmental exposure and/or dietary origin. The exploitation of terrestrial-based ecosystem in general (often proximal to human-impacted habitats) has also been shown to influence contamination patterns in birds. Lindberg *et al.* (2004) first reported that enhanced utilization of terrestrial environment for feeding influences the contamination profiles in top predator birds; e.g., in terrestrial peregrine falcons from Norway, BDE-183 and BDE-209 were detected at higher concentrations.

Moreover, other studies on gulls and other birds that benefited more from terrestrial food web also showed higher accumulation of BDE-209 (Gauthier *et al.*, 2008; Hebert, Arts and Weseloh, 2006; Jaspers *et al.*, 2006; Lavoie *et al.*, 2010). More recently, elevated BDE-209 exposure of Canadian Larids has been related with usage of terrestrial environments near urban areas, due, partially, to the high affinity of this specific congener with ambient air dust (Chen and Hale, 2010).

Previous studies have reported significant associations between levels of some PBDE congeners and stable isotopes. For instance, Sormo *et al.* (2011) reported inverse relationship between levels of BDE-209 and $\delta^{13}\text{C}$ in coastal (Norway) herring gull muscles. These authors suggested that lower $\delta^{13}\text{C}$ was indicative of high consumption of terrestrial food items, which supported the assumption that higher brominated compounds have terrestrial sources. These observations could not be corroborated with present results in RBGUs from Deslauriers Island, as no association was found between $\delta^{13}\text{C}$ and PBDE profiles. However, an inverse correlation was observed between BDE-209 levels (plasma) and $\delta^{15}\text{N}$ in RBGUs that foraged predominantly in intensive agricultural fields, which was consistent with results in the Sormo *et al.* (2011) investigation in which the same inverse relationship was observed between muscle $\delta^{15}\text{N}$ in coastal herring gulls and BDE-183 and BDE-209 concentrations. Further, in Chinese pond heron (*Ardeola bacchus*), Zhang *et al.* (2011) found that concentrations of BDE-47, BDE-99 and BDE-100 were positively correlated with trophic level (based on $\delta^{15}\text{N}$ values), thus confirming the trophic magnification of lower brominated PBDE compounds. A similar positive correlation was observed between levels of BDE-47 and $\delta^{15}\text{N}$ values in plasma of RBGUs that foraged predominantly in the Agricultural and the St-Lawrence River foraging habitats.

3.6 Conclusion and future work

The present study strongly supported that exploitation of human-impact habitats and terrestrial-based ecosystem near urban areas for foraging activities are primary sources of higher brominated flame retardants, e.g., BDE-209 and its debrominated products, in RBGUs breeding in the greater Montréal area. The combined usage of stable isotope profiling and GPS-based tracking thus represents a promising approach to examine sources of PBDEs in the Montréal-breeding RBGU, and potentially other omnivorous species. However, differences in tissue turnover rates between stable isotopes of carbon and nitrogen and contaminants may prevent longer-term predictions. As it was already documented by Sormo *et al.* (2011), long-term bioaccumulation of PBDEs is not necessarily related with stable isotope signature that represents recent nutrients input. Hence, with omnivorous species, interpretation of stable isotope signature using plasma and liver is challenging, because these data cannot discriminate whether a particular isotopic signature is related with a feeding preference or a mixed diet. The use of other tissues, like muscles and feathers, could provide information about longer-term diet.

In urban environments, the inhalation of dust and air plays an important role in PBDE contamination, especially with higher brominated PBDEs. Hence, major exposure pathways to higher brominated congeners (e.g., BDE-209) in present RBGUs may include inhalation of BDE-209-laden particles in air and ingestion via preening activities in urban/terrestrial environments, as this compound is known to stick to feathers (Park *et al.*, 2009). The high levels of BDE-209 reported in this RBGU colony are concerning. Indeed, it has been reported that BDE-209 exhibit toxicity in organism, e.g., disruption of the hypothalamo-pituitary-thyroid axis (Lee *et al.*, 2010), inhibition of spermatogenesis and reduction of spermatocytes (Li *et al.*, 2011).

In response to the relatively recent phase-out of penta- and octa-BDE, emerging flame retardants are now being detected in wildlife. In Montréal-breeding RBGUs, Gentes *et al.* (2012) detected other emerging flame retardants including Dechlorane Plus (*anti*- and *syn*-isomers) and Bis(2-ethylhexyl)-2,3,4,5-tetrabromophthalate (TBPH). The increasing detection in biotic samples of these less-studied flame retardants warrants further

investigation on their environmental sources. Ongoing work at our laboratory will attempt establishing relationships between foraging habitat-usage and non-PBDEs contamination in present RBGUs.

3.7 *Acknowledgements*

Funding for this project was provided by a National Science and Engineering Research Council of Canada (NSERC) Discovery Grant (to J.V.) and the Canada Research Chair in Comparative Avian Toxicology (to J. V.). We are grateful to laboratory personnel at the National Wildlife Research Centre (Ottawa, Canada) (Shaogang Chu, Lewis Gauthier and Éric Pelletier) and Université du Québec à Montréal (UQAM) (Vicky Doré) for their assistance with chemical analyses. We would also like to thank Jean-François Hélie and Agnieszka Adamovitch (GEOTOP) for their help with stable isotope analysis. We extend our appreciation to Martin Patenaude-Monette, Francis St-Pierre and Mathieu Tremblay (UQAM) for their contribution to fieldwork. E.C.B is partly supported by bursaries from the *Fonds d'accessibilité et réussite des études* (FARE, UQAM) and *Département des sciences biologiques* (UQAM).

4 CONCLUSION

Bien que de nombreuses études se soient intéressées à la contamination des Laridés aux PBDEs, peu d'entre elles ont tenté d'expliquer les grandes différences entre les profils de contamination par le régime alimentaire et l'utilisation de l'espace. Il est connu, pour plusieurs espèces, que la présence de PBDEs chez les organismes de niveaux trophiques supérieurs est en partie associée au régime alimentaire et à l'environnement. Des études récentes ont permis, effectivement, de relier une alimentation influencée par le milieu anthropique à des concentrations élevées des congénères fortement bromés, comme le BDE-209, chez des Laridés (Auman *et al.*, 2011) et chez des mammifères (Newsome *et al.*, 2010b). Cette hypothèse est plausible dans le cas du goéland à bec cerclé, qui niche dans une région urbaine fortement contaminée à ce type de substances, et qui présente une diète variée. Chez cette espèce nichant à l'île Deslauriers, d'importantes variations de concentration de PBDEs ont été observées. L'utilisation des isotopes stables, en tant que marqueurs d'alimentation, ainsi que le suivi précis des oiseaux par GPS miniatures, est une voie de recherche innovatrice puisqu'elle a en partie permis d'expliquer ces variations intraspécifiques de profil de contamination et de régime alimentaire.

L'objectif principal de cette étude était d'expliquer les variations de concentration d'ignifuges de type PBDE dans le foie et le plasma des goélands à bec cerclé, par l'analyse de leur régime alimentaire et de leurs aires d'alimentation visitées et ce, au niveau individuel. Nous avons émis l'hypothèse qu'une aire d'alimentation particulière engendrerait un certain profil de contamination, ce qui devrait se refléter dans les ratios d'isotopes stables. Pour se faire, la géolocalisation, les isotopes stables et l'analyse des contenus stomacaux ont été les outils utilisés. Les analyses des données de géolocalisation ont permis de déterminer avec précision les aires d'alimentation visitées par chaque individu suivi ainsi que les proportions de visite associées à chacune de ces aires. Les interprétations des ratios d'isotopes stables ont permis de catégoriser le régime alimentaire de chaque individu grâce à l'interprétation des ratios isotopiques de carbone (^{13}C) dans le plasma, les cellules sanguines et le foie. De plus, l'analyse des ratios isotopiques d'azote (^{15}N) dans les mêmes tissus permettait de raffiner l'interprétation du régime alimentaire de chaque individu et de détecter les variations

intraspécifiques de niveaux trophiques. L'analyse des contenus stomacaux, quoi que peu concluante en raison du petit nombre d'échantillons, a tout de même permis de corroborer certaines interprétations des analyses isotopiques, en confirmant le type d'aliments ingérés avec l'habitat utilisé chez quelques oiseaux.

Ce n'est que récemment que certaines études ont associé des techniques de télémétrie avec les analyses isotopiques, dans le but d'en améliorer l'interprétation (Votier *et al.*, 2010, 2011). Grâce à un suivi détaillé des aires d'alimentation de certains individus munis d'unités GPS miniatures, nous avons pu confirmer les résultats d'analyses isotopiques. Premièrement, nous avons démontré que les individus de la colonie de l'île Deslauriers, nichant dans un paysage hétérogène, ont utilisé plusieurs types d'habitats pour leurs activités de quête alimentaire. Plus précisément, les goélands à bec cerclé ont utilisé des milieux de type anthropique (sites d'enfouissement techniques, île de Montréal et villes environnantes) et ont visité, pour la totalité des individus suivis, les terres agricoles. Ces comportements de quête alimentaire avaient déjà été observés pour cette espèce (Belant, Ickes et Seamans, 1999 ; Patenaude-Monette, 2012). Chez les autres espèces de Laridés, l'utilisation des milieux agricoles et anthropiques pour les activités de quête alimentaire était reliée à la proximité des aires de nidification avec des zones fortement populeuses.

L'utilisation des milieux anthropiques s'est reflétée dans les ratios d'isotopes stables, quoique ces conclusions ne soient basées que sur un petit échantillonnage. En effet, la tendance générale des ratios de carbone (^{13}C) a permis d'associer le régime alimentaire des goélands à bec cerclé à un type de diète influencée par les milieux terrestres et urbains, où la nourriture transformée est plus abondante et accessible. Également, les oiseaux ayant visité le milieu anthropique en plus grande proportion pour leurs activités de quête alimentaire présentaient une signature d'azote ($\delta^{15}\text{N}$) plus basse et un ratio C:N plus haut, comparativement aux oiseaux s'étant alimentés en plus grande proportion dans le milieu agricole. Cette signature particulière pourrait être associée avec la consommation de nourriture transformée. Effectivement, ce type de nourriture est souvent produit à base de maïs et présente un $\delta^{15}\text{N}$ relativement plus bas que les proies disponibles en "milieu naturel"

(Jahren et Kraft, 2008). De plus, le plus faible contenu en protéines de la nourriture transformée par rapport aux lipides et carbohydrates pourrait modifier les ratios C:N.

4.1 La fréquentation du milieu anthropique comme source de contamination au BDE-209

Certains des résultats présentés suggèrent que l'utilisation d'habitats anthropiques puisse affecter les profils de contamination des goélands à bec cerclé nichant dans une région urbanisée. En effet, les variations dans les valeurs de ratios de carbone ($\delta^{13}\text{C}$) et d'azote ($\delta^{15}\text{N}$) ainsi que dans les niveaux de contamination à certains PBDEs sont possiblement dues aux différences de régime alimentaire et des aires d'alimentation visitées. Quoique la somme totale des congénères PBDEs ne diffère pas entre les habitats d'alimentation, les profils de contamination sont distincts chez les oiseaux classés dans l'habitat d'alimentation anthropique. En effet, le ratio de la concentration de BDE-209 sur la concentration de BDE-47 chez ces oiseaux dénote une plus grande exposition aux congénères fortement bromés dans les zones urbanisées, par rapport aux congénères faiblement bromés (ex : BDE-47) qui sont plutôt associés à une exposition via le milieu aquatique. De plus, les résultats suggèrent que des niveaux plus élevés en BDE-209 seraient associés à l'assimilation de particules aériennes via la respiration et le nettoyage des plumes lors des visites à des sites particulièrement contaminés, ainsi qu'à la consommation de proies situées à des niveaux trophiques inférieurs (vers, insectes, végétation, déchets), qui seraient facilement accessibles dans les milieux terrestres et influencés par l'activité humaine.

Grâce aux analyses d'isotopes stables, l'utilisation par le goéland à bec cerclé d'une chaîne alimentaire influencée par le milieu terrestre a pu être mise en lumière. Sa grande exposition aux PBDEs, et particulièrement au BDE-209, semble pouvoir être expliquée par la fréquentation de milieux terrestres et urbains lors des déplacements destinés à l'alimentation. Ces résultats sont en accord avec l'étude de Sormo *et al.* (2011), qui avaient établi que les organismes provenant de chaînes alimentaires terrestres consommés par des goélands argentés démontraient des niveaux plus élevés de BDE-209, contrairement aux proies provenant de milieu marin. Parallèlement, cette étude avait également conclu que les grandes

variations au niveau des signatures isotopiques de carbone au sein de la même colonie de goélands argentés reflétaient leur alimentation mixte, influencée par le milieu terrestre. Sormo *et al.* (2011) avaient alors conclu que l'exposition importante au BDE-209 de ces oiseaux était reliée à leur fréquentation des milieux terrestres. Lindberg *et al.* (2004) avaient également observé que les organismes évoluant dans les environnements terrestres étaient plus exposés aux PBDEs fortement bromés, contrairement aux organismes aquatiques. En effet, cette étude avait démontré l'accumulation de BDE-209 dans les œufs de faucons pèlerins, ce qui va à l'encontre de la croyance générale voulant que ce congénère soit peu biodisponible, et donc peu bioaccumulé dans les organismes. Ces études, ainsi que celle de Gentes *et al.* (2012) et le présent projet, démontre que le BDE-209 est non seulement présent dans l'environnement, mais qu'il est biodisponible pour les organismes de niveaux trophiques supérieurs. Dans le cas du goéland à bec cerclé, celui-ci y est particulièrement exposé, de par son utilisation de milieux terrestres et urbains, qui sont des sources de BDE-209.

La production et l'utilisation du déca-BDE continue et n'est pour l'instant pas légiférée au Canada, ce qui aura pour effet d'augmenter considérablement les sources d'exposition à ce congénère, particulièrement par les milieux terrestres. De plus, la fréquentation des milieux urbains représente un risque substantiel d'exposition à cet ignifuge pour la faune et également pour les populations humaines. À ce jour, les concentrations de BDE-209 augmentent drastiquement, et nous retrouvons dans l'environnement de potentiels produits de débromination de ce congénère, potentiellement plus toxiques et bioaccumulables. L'importance d'études portant sur les sources d'exposition à ce congénère ainsi que sur sa dégradation n'est donc plus à prouver. Quoiqu'une possible restriction de l'utilisation du déca-BDE soit à prévoir en 2013 au Canada, la faune et les populations humaines seront encore exposées à ce contaminant de par sa grande persistance environnementale.

4.2 *Recommandations*

L'utilisation de l'isotope stable et de la géolocalisation ont présenté des avantages certains pour expliquer les variations de concentrations d'ignifuges de type PBDE, particulièrement chez une espèce omnivore comme le goéland à bec cerclé. Cependant, la méthode utilisée présente certaines limites. De par le taux de renouvellement relativement court, l'utilisation du plasma et du foie pour les analyses isotopiques ne permettrait pas de relier la signature isotopique avec une bioaccumulation de PBDEs à plus long terme. De plus, le petit nombre d'individus ayant été suivis par GPS peut conduire à de faibles associations entre les signatures isotopiques et les profils de contamination aux PBDEs.

Bien que cette étude reste exploratoire et nécessite des améliorations, elle demeure une approche prometteuse en écotoxicologie. Peu d'études ont pu se pencher sur les profils de contamination et l'interprétation des analyses isotopiques au niveau individuel afin d'expliquer d'importantes variations au sein d'une même colonie. En ce sens, cette approche expérimentale a assurément atteint son but, puisque les résultats obtenus ont permis de relier l'utilisation de l'espace et le régime alimentaire avec certains profils de contamination. Afin de confirmer cette approche, l'utilisation de plusieurs tissus (plumes, muscles) pour les analyses isotopiques ainsi que l'emploi de données s'échelonnant sur plusieurs années seraient certainement à envisager.

ANNEXE

RÉSULTATS COMPLÉMENTAIRES : CONTENUS STOMACAUX

Cette section rapporte, sous forme de tableau, les résultats des contenus stomacaux obtenus chez huit goélands à bec cerclé mâles échantillonnés lors du printemps 2010. En raison du petit nombre d'oiseaux possédant des contenus stomacaux identifiables, ces résultats n'ont pas été utilisés pour les analyses statistiques.

Table A.1 Percentage of dry and wet weight of food item found in partial G.I. tract of male RBGUs categorized in foraging habitat categories determined using GPS-based telemetry.

RBGU I.D.	G.I. tract content	% dry weight	% wet weight	Habitat-use category
FAZ	Plant parts (corn)	52.9	79.3	Anthropogenic
	Pebbles	47.1	20.7	
CAL	Plant parts (corn)	61.8	95.6	St-Lawrence
	Invertebrates (unidentified insects, Diplopodes, dipterous larvae, Pterostichius)	27.7	4.4	
JCZ	Invertebrates (unidentified insects)	100	100	St-Lawrence
JKA	Invertebrates (trichoptera, coleoptera, annelida, diplopoda, anisodactilus harpalus, dipterous larvae)	100	100	St-Lawrence
FXL	Plant parts (corn)	100	100	St-Lawrence
JXX	Invertebrates (unidentified insects)	100	100	St-Lawrence
FMP	Plant parts (corn)	100	100	Agricultural
FMA	Non-edible refuse (bones)	100	100	Agricultural

RÉFÉRENCES

- Abend, A.G., Smith, T.D. 1997. Differences in stable isotope ratios of carbon and nitrogen between long-finned pilot whales (*Globicephala melas*) and their primary prey in the western north Atlantic. *ICES Journal of Marine Science*. 54:500-503.
- Auman, H.J., Bond, A.L., Meathrel, C.E., Alastair, M.M. 2011. Urbanization of the Silver Gull : Evidence of anthropogenic feeding regimes from stable isotope analyses. *Waterbirds*. 35:70-72.
- Bauchinger, U., McWilliams, S. 2009 Carbon turnover in tissues of a Passerine bird : allometry, isotopic clocks, and phenotypic flexibility in organ size. *Physiological and Biochemical Zoology*. 85 :787-797.
- Bearhop, S., Thompson, D.R., Waldron, S., Russel, I.C., Alexander, G., Furness, R.W. 1999. Stable isotopes indicate the extent of freshwater feeding by Cormorants *Phalacrocorax carbo* shot at inland fisheries in England. *Journal of Applied Ecology*. 36:75-84.
- Bearhop, S., Waldron, S., Votier, S.C., Furness, R.W. 2002. Factors that influence assimilation rates and fractionation of nitrogen and carbon stable isotopes in avian blood and feathers. *Physiological and Biochemical Zoology*. 75:451-458.
- Bearhop, S., Phillips, R.A., McGill, R., Cherel, Y., Dawson, D.A., Croxall, J.P. 2006. Stable isotopes indicate sex-specific and long-term individual foraging specialisation in diving seabirds. *Marine ecology progress series*. 311:157-164.
- Belant, J.L., Ickes, S.K., Seamans, T.W. 1999. Importance of landfills to urban-nesting herring and ring-billed gulls. *Landscape and Urban Planning*. 43:11-19.
- Betts, K.S. 2008. Unwelcome Guest: PBDEs in Indoor Dust. *Environmental health perspectives*. 16:A202-A208.
- Bond, A.L. 2010. Relationships between stable isotopes and metal contaminants in feathers are spurious and biologically uninformative. *Environmental Pollution*. 158:1182-1184.

Braune, B.M., Mallory, M.L., Gilchrist, G., Letcher, R.J., Drouillard, K.G. 2007. Levels and trends of organochlorines and brominated flame retardants in Ivory gull eggs from the Canadian Arctic, 1976 to 2004. *Science of the total environment*. 378:403-417.

Brousseau, P., Lefebvre, J., Giroux, J-F. 1996. Diet of ring-billed gull chicks in urban and non-urban colonies in Quebec. *Colonial Waterbirds*. 19:22-30.

Buchheister, A., Latour, R.J. 2010. Turnover and fractionation of carbon and nitrogen stable isotopes in tissues of a migratory coastal predator, summer flounder (*Paralichthys dentatus*). *Canadian journal of fisheries and aquatic sciences*. 67:445-461.

Burger, A.E., Shaffer, S.A. 2008. Perspectives in Ornithology Application of Tracking and Data-Logging Technology in Research and Conservation of Seabirds. *The Auk*. 125:253-264.

Bustnes, J.O., Bakken, V., Erikstad, K.E., Mehlum, F., Skaare, J.U. 2001. Patterns of incubation and nest-site attentiveness in relation to organochlorine (PCB) contamination in glaucous gulls. *Journal of applied ecology*. 38:791-801.

Caron-Beaudoin, E., Gentes, M.L., Helie, J.F., Giroux, J.F., Verreault, J. In Prep. Combined usage of stable isotope signature and GPS-based telemetry to understand the feeding ecology of Ring-billed gulls in a heterogeneous landscape.

Chabot-Giguère, B., Letcher, R.J., Verreault, J. In Prep. *In vivo* biotransformation of BDE-209 and Dechlorane-Plus: a case study of ring-billed gull breeding in a pollution hotspot in the St-Lawrence River, Canada.

Chen, D., Hale, R.C. 2010. A global review of polybrominated diphenyl ether flame retardant contamination in birds. *Environment International*. 36:800-811.

Chen, D.; Letcher, R. J.; Burgess, N. M.; Champoux, L.; Elliott, J. E.; Hebert, C.; Martin, P.; Wayland, M.; Weseloh, D. V. C., Wilson, L. 2012. Flame retardants in the eggs of four gull species (Laridae) from breeding sites spanning Atlantic to Pacific Canada. *Environmental Pollution*. 168:1-9.

Chudzik, J.M., Graham, K.D., Morris, R.D. 1994. Comparative breeding success and diet of ring-billed and herring gulls on South Limestone Island, Georgian Bay. *Colonial Waterbirds*. 17:18-27.

Costa, L.G., Giordano, G., Tagliaferri, S., Caglieri, A., Mutti, A. 2008. Polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants: environmental contamination, human body burden and potential adverse health effects. *Acta Biomed*. 79:172-183.

Cuendet, G. 1983. *Predation on earthworms by the black-headed gull Larus ridibundus*. In: Satchell JE (ed) *Earthworm ecology- from Darwin to vermiculture*. London: Chapman and Hall, 456 p.

Dell'Araccia, G., Dell'Omo, G., Wolfer, D.P., Lipp, H.P. 2008. Flock flying improves pigeons' homing: GPS track analysis of individual flyers versus small groups. *Animal Behaviour*. 76:1165-1172.

De Wit, C.A. 2002. An overview of brominated flame retardants in the environment. *Chemosphere*. 46:583-624.

De Wit, C.A., Alaee, M., Muir, D.C.G. 2006. Levels and trends of brominated flame retardants in the Arctic. *Chemosphere*. 64:209-233.

De Wit, C.A., Herzke, D., Vorkamp, K. 2010. Brominated flame retardants in the Arctic environment-trends and new candidates. *Science of The Total Environment*. 408:2885-2918.

Dubuc, Y. 2009. *Les insectes du Québec : guide d'identification*. Cornwell University : Broquet, 456 p.

Duhem, C., Vidal, E., Legrand, J., Tatoni, T. 2003. Opportunistic feeding responses of the Yellow-legged gull *Larus michahellis* to accessibility of refuse dumps: The gulls adjust their diet composition and diversity according to refuse dump accessibility. *Bird Study*. 50:61-67.

Duhem, C., Roche, P., Vidalet, E., Tatoni, T. 2008. Effects of anthropogenic food resources on yellow-legged gull colony size on Mediterranean islands. *Population Ecology*. 50:91-200.

Environnement Canada. 2010. *Rapport sur l'état des connaissances scientifiques écologiques concernant le décabromodiphényléther (decaBDE): bioaccumulation et transformation*. En ligne. <http://www.ec.gc.ca/lcpe-cepa/default.asp?lang=Fr&n=B901A9EB&offset=1&toc=show>.

Environment Canada. 2011. *Risk Management of DecaBDE: Commitment to Voluntary Phase-Out Exports to Canada*. En ligne. <http://www.ec.gc.ca/toxiques-toxics/default.asp?lang=En&n=F64D6E3B-1&xml=F64D6E3B-0328-4C11-A9E4-790D053E42A1>.

Fernie, K.J., Laird Shutt, J., Mayne, G., Hoffman, D., Letcher, R.J., Drouillard, K.G., Ritchie, I.J. 2005. Exposure to Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs): Changes in Thyroid, Vitamin A, Glutathione Homeostasis, and Oxidative Stress in American Kestrels (*Falco sparverius*). *Toxicological Sciences*. 88:375-383.

Freeman, R., Dennis, T., Landers, T., Thompson, D., Bell, E., Walker, M., Guilford, T. 2010. Black Petrels (*Procellaria parkinsoni*) patrol the ocean shelf-break: GPS tracking of a vulnerable procellariiform seabird. *Plos One*. 5.

Gentes, M-L., Letcher, R.J., Caron-Beaudoin, E., Verreault, J. 2012. Novel Flame Retardants in URBAN-FEEDING Ring-Billed Gulls from the St-Lawrence River, Canada. *Environmental Science & Technology*. 46:9735-9744.

Gauthier, L.T., Hebert, C.E., Weseloh, D.V.C., Letcher, R.J. 2007. Current-use Flame Retardants in the Eggs of Herring Gulls (*Larus argentatus*) from the Laurentian Great Lakes. *Environmental Science and Technology*. 41:4561-4567.

Gauthier, L.T., Hebert, C.E., Weseloh, D.V.C., Letcher, R.J. 2008. Dramatic changes in the temporal trends of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in herring gull eggs from the Laurentian Great Lakes: 1982-2006. *Environmental Science and Technology*. 42:1524-1530.

Gauthier, L., Potter, D., Hebert, C., Letcher, R. 2009. Temporal trends and special distribution of non-polybrominated diphenyl ether flame retardants in the eggs of colonial populations of Great Lakes herring gulls. *Environmental Science and Technology*. 43:312-317.

Grémillet, D., Dell'Omo, G., Ryan, P.G., Peters, G., Ropert-Coudert, Y., Weeks, S.J. 2004. Offshore diplomacy, or how seabirds mitigate intra-specific competition: a case study based on GPS tracking of Cape gannets from neighbouring colonies. *Marine Ecology Progress Series*. 268:265-279.

Guilford, T.C., Meade, J., Freeman, R., Biro, D., Evans, T., Bonadonna, F., Boyle, D., Roberts, S., Perrins, C.M. 2008. GPS tracking of the foraging movements of Manx Shearwaters *Puffinus puffinus* breeding on Smoker Island, Wales. *International journal of avian science*. 150:462-473.

He, P., Wang, A., Niu, Q., Guo L., Xia, T., Chen, X. 2010. Toxic effect of PBDE-47 on thyroid development, learning, and memory, and the interaction between PBDE-47 and PCB153 that enhances toxicity in rats. *Toxicology and Industrial Health*. 27:279-288.

Hebert, C.E., Shutt, J.L., Hobson, K.A., Weseloh, D.V.C. 1999. Spatial and temporal differences in the diet of Great Lakes herring gulls (*Larus argentatus*): evidence from stable isotope analysis. *Journal canadien des sciences halieutiques et aquatiques*. 56 :323-338.

Hebert, C.E., Weseloh, D.V.C 2006. Adjusting for temporal change in trophic position results in reduced rates of contaminant decline. *Environmental Science & Technology*. 40 :5624-5628.

Hebert, C.E., Arts, M.T., Weseloh, D.V.C. 2006. Ecological tracers can quantify food web structure and change. *Environmental Science & Technology*. 40:5618-5623.

Hebert, C.E., Weseloh, D.V.C., Gauthier, L.T., Arts, M.T., Letcher, R.J. 2009a. Biochemical tracers reveal intra-specific differences in the food webs utilized by individual seabirds. *Oecologia*. 160 :15-23.

Hebert, C.E., Weseloh, D.V.C., Idrissi, A., Arts, M.T., Roseman, E. 2009b. Diets of aquatic birds reflect changes in the Lake Huron ecosystem. *Aquatic Ecosystem Health & Management*. 12:37-44.

Hobson, K.A. 1987. Use of stable-carbon isotope analysis to estimate marine and terrestrial protein content in gull diets. *Canadian Journal of Zoology*. 65:1210-1213.

Hobson, K.A., Clark, R.G. 1992. Assessing avian diets using stable isotopes I : turnover of ^{13}C in tissues. *Condor*. 94 :181-188.

Hobson, K.A., Clark, R.G. 1993. Turnover of ^{13}C in cellular and plasma fractions of blood : implications for nondestructive sampling in avian dietary studies. *The Auk*. 110:638-641.

Hobson, K.A., Piatt, J.F., Pitocchelli, J. 1994. Using stable isotopes to determine seabird trophic relationships. *Journal of Animal Ecology*. 63:786-798.

Hobson, K.A. 2009. Trophic interactions between cormorants and fisheries: toward a more quantitative approach using stable isotopes. *Waterbirds*. 32:481-490.

Hoffman, J.C., Sutton, T.T. 2010. Lipid correction for carbon stable isotope analysis of deep-sea fishes. *Deep Sea Research Part I : Oceanographic Research Papers*. 57:956-964.

Hu, G.C., Dai, J.Y., Zu, Z.C., Luo, Z.J., Cao, H., Wang, J.S., Mai, B.X., Zu, M.Q. 2010. Bioaccumulation behavior of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in the freshwater food chain of Baiyangdian Lake, North China. *Environment International*. 36:309-315.

Jahren, A.H., Kraft, R.A. 2008. Carbon and nitrogen stable isotopes in fast food : Signatures of corn and confinement. *PNAS*. 105:17855-17860.

Jardine, T.D., Kidd, K.A., Fisk, A.T. 2006. Applications, considerations, and sources of uncertainty when using stable isotope analysis in ecotoxicology. *Environmental Science and Technology*. 40:7501-7511.

Jaspers, V.L.B., Covaci, A., Voorspoels, S., Dauwe, T., Eens, M., Schepens, P. 2006. Brominated flame retardants and organochlorine pollutants in aquatic and terrestrial predatory birds of Belgium: levels, patterns, tissue distribution and condition factors. *Environmental Pollution*. 139:340-352.

Jensen, P.M., Madsen, P., Stoumann, L., Pipper, C.B. 2012. Differences in carbon and nitrogen stable isotope signatures among wild and released pheasant populations. *European Journal of Wildlife Research*. 58:755-760.

Kelly, J.F. 2000. Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology. *Canadian Journal of Zoology*. 78:1-27.

Kubetzki, U., Garthe, S 2003. Distribution, diet and habitat selection by four sympatrically breeding gull species in the south-eastern North Sea. *Marine Biology*. 143:199-207.

Kurle, C.M. 2002. Stable-isotope ratios of blood components from captive northern fur seals (*Callorhinus ursinus*) and their diet: applications for studying the foraging ecology of wild otarids. *Canadian Journal of Zoology*. 80:902-909.

Lavoie, R.A., Champoux, L., Rail, J.F., Lean, D.R.S. 2010. Organochlorines, brominated flame retardants and mercury levels in six seabird species from the Gulf of St. Lawrence (Canada): Relationships with feeding ecology, migration and molt. *Environmental Pollution*. 158:2189-2199.

Lindberg, P., Sellstrom, U., Haggberg, L., De Wit, C.A. 2004. Higher brominated diphenyl ethers and hexabromocyclododecane found in eggs of peregrine falcons (*Falco peregrinus*) breeding in Sweden. *Environmental Science & Technology*. 38:93-96.

Minagawa, M., Wada, E. 1984. Stepwise enrichment of ^{15}N along food chains: Further evidence and the relation between ^{15}N and animal age. *Geochimica and Cosmochimica Acta*. 48:1135-1140.

Muir, D., De Wit, C.A. 2010. Trends of legacy and new persistent organic pollutants in the circumpolar arctic : Overview, conclusions, and recommendations. *Science of the Total Environment*. 408 :3044-3051.

Munoz-Arnanz, J., Saez, M., Aguirre, J.I., Hiraldo, F., Baos, R., Pacepavicius, G., Alae M., Jiménez, B. 2010. Predominance of BDE-209 and other higher brominated diphenyl ethers in eggs of white stork (*Ciconia ciconia*) colonies from Spain. *Environment International*. 37:572-576.

Newsome, S., Park, J.S., Henry, B.W., Holden, A., Fogel M.L., Linthicum, J., Chu, V., Hooper, K. 2010a. Polybrominated Diphenyl Ether (PBDE) levels in Peregrine Falcon (*Falco peregrinus*) eggs from California correlate with diet and human population density. *Environmental Science & Technology*. 44:5248-5255.

Newsome, S.D., Ralls, K., Van Horn Job, C., Fogel, M.L., Cyper, B.L. 2010b. Stable isotopes evaluation exploitation of anthropogenic foods by the endangered San Joaquin kit fox (*Vulpus macrotis mutica*). *Journal of Mammalogy*. 91:1313-1321.

Nellis, D.W. 2001. *Common coastal birds of Florida & the Caribbean*. Sarasota : Pineapple Press Inc, 311 p.

Patenaude-Monette, M. 2012. « Caractérisation des habitats d'alimentation du Goéland à bec cerclé dans le Sud du Québec ». Mémoire de maîtrise, Montréal, Université du Québec à Montréal, 62 f.

Pearson, S.F., Levey, D.J., Greenberg, C.H., Martinez Del Rio, C. 2003. Effects of elemental composition on the incorporation of dietary nitrogen and carbon isotopic signatures in an omnivorous songbird. *Oecologia*. 135:516-523.

Persic, A. 2004. « Modalités de contamination par les polluants organiques persistants des réseaux trophiques lagunaires. Application de la méthode des isotopes stables ». Thèse de doctorat en ligne. Paris, Université Paris XI, UFR Scientifique d'Orsay, 252. <<http://tel.archives-ouvertes.fr/docs/00/04/78/89/PDF/tel-00008851.pdf>>.

Phillips, R.A., Croxall, J.O., Silk, J.R.D., Briggs, D.R. 2008. Foraging ecology of albatrosses and petrels from South Georgia: two decades of insights from tracking technologies. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*. 17:S6-S21.

Potter, K.E., Watts, B.D., La Guardia, M.J., Harvey, E.O., Hale, R.C. 2009. Polybrominated diphenyl ether flame retardants in Chesapeake Bay region, USA, peregrine falcon (*Falco peregrinus*) eggs: Urban/rural trends. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 28:973-981.

Racine, F., Giraldeau, L.A., Patenaude-Monette, M., Giroux, J.F. 2012. Evidence of social information on food location in a ring-billed gull colony, but the birds do not use it. *Animal Behaviour*. 84:175-182.

Ramos, R., Ramirez, F., Sanpera, C., Jover, L., Ruiz, X. 2009. Feeding ecology of yellow-legged gulls *Larus michahellis* in the western Mediterranean: a comparative assessment using conventional and isotopic methods. *Marine Ecology Progress Series*. 377:289-297.

Robbins, C.T., Felicetti, L.A., Sponheimer, M. 2005. The effect of dietary protein quality on nitrogen isotope discrimination in mammals and birds. *Oecologia*. 144:534-540.

Ryder, J.P. 1993. *Ring-billed Gull (Larus delawarensis)*, *The Birds of North America Online* (A. Poole, Ed.). Ithaca: Cornell Lab of Ornithology. En ligne: <<http://bna.birds.cornell.edu/bna/species/033>>.

Schwemmer, P., Garthe, S., Mundry, R. 2008. Area utilization of gulls in a coastal farmland landscape: habitat mosaic supports niche segregation of opportunistic species. *Landscape Ecology*. 23:355-367.

Shamoun-Baranes, J., Bouten, W., Camphuysen, C.J., Baaij, E. 2011. Riding the tide: intriguing observations of gulls resting at sea during breeding. *International journal of avian science*. 153:411-415.

Shaw, S.D., Brenner, D., Berger, M.L., Fang, F., Hong, C-S., Addink, R., Hilker, D. 2008. Bioaccumulation of polybrominated diphenyl ethers in harbor seals from the northwest Atlantic. *Chemosphere*. 73:1773-1780.

Sibly, R.M., McCleery, R.H. 1983. The distribution between feeding sites of herring gulls breeding in Walney island, U.K. *Journal of Animal Ecology*. 52:51-68

Sormo, E.G., Lie, E., Ruus, A., Gaustad, H., Skaare, J.U., Jenssen, B.M. 2011. Trophic level determines levels of brominated flame-retardants in coastal herring gulls. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 74:2091-2098.

Spear, L.B. 1993. Dynamics and effect of western gulls feeding in a colony of guillemots and Brandt's cormorants. *Journal of Animal Ecology*. 62:399-414.

Stowasser, G., Atkinson, A., McGill, R.A.R., Phillips, R.A., Collins, M.A., Pond, D.W. 2012. Food web dynamics in the Scotia Sea in summer: a stable isotope study. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*. 59-60:208-221.

Thieriot, E. 2012. « Évaluation de l'efficacité des méthodes d'effarouchement du Goéland à bec cerclé dans les lieux d'enfouissement technique ». Mémoire de maîtrise, Montréal, Université du Québec à Montréal.

Tieszen, L.L., Boutton, T.W., Tesdahl, K.G., Slade, N.A. 1983. Fractionation and turnover of stable carbon isotopes in animal tissues : Implications for ^{13}C analysis of diet. *Oecologia*. 57:32-37.

Tykot, R.H. 2004. *Stable isotopes and diet : You are what you eat*. IOS Press.

Ucan-Marín, F., Arukwe, A., Mortensen, A., Gabrielsen, G.W., Fox, G.A., Letcher, R.J. 2009. Recombinant Transthyretin Purification and Competitive Binding with Organohalogen Compounds in Two Gull Species (*Larus argentatus* and *Larus hyperboreus*). *Toxicological Sciences*. 107:440-450.

Van Bavel, B., Rotander, A., Lindstrom, G., Polder, A., Rigét, F., Audunsson, G.A., Dam, M. 2010. *Proceedings of the BFR2010 Conference* (Kyoto, Japan, 7-9 April 2010).

Verreault, J., Gabrielsen, G.W., Chu, S., Muir, D.C.G., Anderson, M., Hamaed, A., Letcher, R.J. 2005. Flame retardants and methoxylated and hydroxylated polybrominated diphenyl ethers in two Norwegian Arctic top predators: Glaucous Gulls and Polar Bears. *Environmental Science & Technology*. 39:6021-6028.

Verrault, J., Shahmiri, S., Gabrielsen, G., Letcher, R.J. 2007. Organohalogen and metabolically-derived contaminants and associations with whole body constituents in Norwegian Arctic glaucous gulls. *Environment International*. 33:823-830.

Voorspoels, S., Covaci, A., Lepom, P., Escutenaire, S., Schepens, P. 2006. Remarkable findings concerning PBDEs in the terrestrial top-predator Red Fox (*Vulpus vulpus*). *Environmental Science & Technology*. 40:2937-2943.

Votier, S.C., Bearhop, S., Witt, M.J., Inger, R., Thompson, D., Newton, J. 2010. Individual responses of seabirds to commercial fisheries revealed using GPS tracking, stable isotopes and vessel monitoring systems. *Journal of Applied Ecology*. 47:487-497.

Votier, S.C., Grecian, W.J., Patrick S., Newton, J. 2011. Inter-colony movements, at-sea behaviour and foraging in an immature seabird: results from GPS-PPT tracking, radio-tracking and stable isotope analysis. *Marine Biology*. 158:355-362.

Wania, F., Dugani, C.B. 2003. Assessing the long-range transport potential of polybrominated diphenyl ethers: A comparison of four multimedia models. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 22:1252-1261.

Weiser, E.L. 2010. "Use of anthropogenic foods by Glaucous gulls (*Larus hyperboreus*) in Northern Alaska". Thèse de doctorat en ligne. Fairbanks, Faculty of the University of Alaska Fairbanks, 7 f. <http://users.iab.uaf.edu/~abby_powell/Weiser_Thesis_2010.pdf>.

Zhang, X.L., Luo, X.J., Liu, H.Y., Yu, L.H., Chen, S.J., Mai, B.X. 2011 Bioaccumulation of Several Brominated Flame Retardants and Dechlorane Plus in Waterbirds from an E-Waste Recycling Region in South China: Associated with Trophic Level and Diet sources. *Environmental Science and Technology*. 45:400-405.